

SÉRIE A, N° 1381

N° D'ORDRE :

2246

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Jacques PARROD

Ingénieur E. P. C. I.

1^{re} THÈSE. — TRANSFORMATIONS DES SUCRES EN MILIEU AMMONIACAL.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 2 Janvier 1933 devant la Commission d'examen

MM. GEORGES URBAIN.... *Président.*

JEAN PERRIN..... } *Examineurs.*

M^{me} RAMART-LUCAS.... }

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1933

SÉRIE A, N° 1381

N° D'ORDRE :

2246

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Jacques PARROD

Ingénieur E. P. C. I.

1^{re} THÈSE. — TRANSFORMATIONS DES SUCRES EN MILIEU AMMONIACAL.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le Janvier 1933 devant la Commission d'examen

MM. GEORGES URBAIN.... *Président.*

JEAN PERRIN..... } *Examineurs.*

M^{me} RAMART-LUCAS.... }

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1933

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... C. MAURAIN. *Professeur*, Physique du globe.

Doyen honoraire... M. MOLLIARD.

<i>Profess. honoraires.</i>	{	H. LE CHATELIER.	EMILE PICARD.
		H. LEBESGUE.	RÉMY PERRIER.
		A. FERNBACH.	LÉON BRILLOUIN.
		A. LEDUC.	A. DEREIMS.

E. GOURSAT.....	Mathématiques supér.
P. JANET.....	Electrotechnique générale.
F. WALLERANT...	Minéralogie.
P. PAINLEVÉ.....	Mécanique anal. et mécanique céleste.
M. GAULLERY.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés)
EMILE BOREL.....	Calcul des probabilités et phys. mathem.
H. ABRAHAM.....	Physique.
M. MOLLIARD.....	Physiologie végétale.
E. CARTAN.....	Géométrie supérieure.
GABRIEL BERTRAND	Chimie biologique.
JEAN PERRIN.....	Chimie physique.
L. LAPICQUE.....	Physiologie générale.
M ^{me} P. CURIE.....	Physique générale et radioactivité.
G. URBAIN.....	Chimie générale.
L. MARCHIS.....	Aviation.
E. VESSIOT.....	Théorie des fonct. et théorie des transf.
A. COTTON.....	Physique générale.
J. DRACH.....	Application de l'analyse à la géométrie.
CHARLES FABRY...	Physique.
R. LESPIEAU.....	Théories chimiques.
P. PORTIER.....	Physiologie comparée.
CHARLES PEREZ...	Zoologie.
E. BLAISE.....	Chimie organique.
P.-A. DANGEARD..	Botanique.
LÉON BERTRAND..	Géolog. structurale et géolog. appliquée.
E. RABAUD.....	Biologie expérimentale.
G. JULIA.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
PAUL MONTEL.....	Mécanique rationnelle.
V. AUGER.....	Chimie appliquée.
P. WINTREBERT..	Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ.....	Biologie maritime.
EUGÈNE BLOCH...	Physique théorique et phys. céleste.
N.....	Etude des combustibles.
L. LUTAUD.....	Géogr. physique et géol. dynamique.
HENRI VILLAT...	Mécanique des fluides et applications.
CH. JACOB.....	Géologie.
P. PASCAL.....	Chimie minérale.
E. ESCLANGON...	Astronomie.
H. BENARD.....	Mécanique expérimentale des fluides.
C. MAUGUIN.....	Minéralogie.
L. BLARINGHEM..	Botanique.
A. GUILLIERMOND.	Botanique (P. C. N.).
A. DENJOY.....	Mathématiques générales.
A. DUFOUR.....	Physique (P. C. N.).
H. BEGHIN.....	Mécanique physique et expérimentale.
De BROGLIE.....	Théories physiques.

Professeurs

A circular library stamp from the Universiteitsbibliotheek Leiden. The text "R. UNIV." is at the top, "BIBLIOTHEEK" is in the middle, and "LEIDEN" is at the bottom.



E. PÉCHARD.....	Chimie (Ens. P.C.N.).	FOCH.....	Méc. exp. des fluides.
A. GUILLET.....	Physique.	PAUTHENIER.....	Physique (P. C. N.).
M. GUICHARD.....	Chimie minérale.	VILLEY.....	Méc. phys. et expér.
A. MICHEL-LEVY.....	Pétrographie.	LABROUSTE.....	Physique du Globe.
H. MOUTON.....	Chimie physique.	FREUNDLER.....	Chimie (P. C. N.).
L. DUNOYER.....	Optique appliquée.	PRENANT.....	Zoologie.
M. JAVILLIER.....	Chimie biologique.	P. JOB.....	Chimie générale.
ROBERT-LEVY.....	Zoologie.	CHRETIEN.....	Optique appliquée.
A. DEBIERNE.....	Radioactivité.	G. BOHN.....	Zoologie (P. C. N.).
E. DARMOIS.....	Physique.	R. COMBES.....	Sc. Natur. (P. C. N.).
G. BRUHAT.....	Physique.	GARNIER.....	Mécan. Rationnelle.
F. PICARD.....	Zool. (Ev. êtres org.)	PERES.....	Mécan. des fluides.
L. JOLEAUD.....	Paléontologie.	HACKSPILL.....	Chimie (P. C. N.).
M. FRECHET.....	Calcul des probab. et phys. math.	LAUGIER.....	Physiologie générale.
M ^{me} RAMART-LUCAS.....	Chimie organique	TOUSSAINT.....	Technique aéronaut.

Secrétaire..... A. PAGAUD
Secrétaire honoraire... D. TOMBECK

A MON MAITRE

Monsieur PIERRE GIRARD

Directeur de Laboratoire à l'Ecole des Hautes Etudes
Administrateur de l'Institut de Biologie Physico-Chimique.

En témoignage d'affectueuse gratitude.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MES PARENTS

Au seuil de cet exposé, je suis heureux de témoigner ma respectueuse reconnaissance à Monsieur le Professeur Jean Perrin, qui m'a accueilli au Laboratoire de Chimie-Physique de la Faculté des Sciences de Paris, où j'ai commencé la présente étude.

Je tiens aussi à exprimer ici la profonde et respectueuse affection que j'ai vouée à mon Maître, Monsieur Pierre Girard, qui m'a demandé d'entreprendre le présent travail, m'en a fait comprendre l'intérêt, et qui, avec tant de bienveillance, m'a toujours prodigué de si précieux conseils.

Je suis également heureux de remercier ma camarade de laboratoire Mademoiselle Yvonne Garreau, qui a bien voulu se charger de plusieurs expériences délicates.

J'ai effectué la plupart de mes recherches au laboratoire de Monsieur Pierre Girard, à l'Institut de Biologie Physico-Chimique (Fondation Edmond de Rothschild) où j'ai bénéficié des larges moyens matériels dont celui-ci dispose, et où j'ai trouvé une atmosphère cordiale, particulièrement favorable au travail scientifique.

TRANSFORMATIONS DES SUCRES EN MILIEU AMMONIACAL

Par JACQUES PARROD.

INTRODUCTION

Le présent travail a été entrepris avec l'espoir que les résultats obtenus pourraient être utiles aux biologistes.

En opposition avec les animaux qui ne peuvent se nourrir qu'aux dépens d'autres êtres vivants, la plupart des végétaux peuvent se développer dans un milieu purement minéral.

Grâce à la fonction chlorophyllienne, ils transforment l'acide carbonique et l'eau en sucres.

Ils fabriquent diverses substances ternaires : amidon, cellulose, graisses.

Ils élaborent les protéines en utilisant comme sources d'azote : l'azote de l'air, les nitrites, les nitrates et les sels ammoniacaux. Cette évolution de l'azote vers des formes vivantes, est liée à l'origine de la vie sur la Terre. La suite des réactions qu'elle implique demeure tout à fait mystérieuse. Ainsi que nous le verrons avec plus de détails, les protéines prennent naissance chez les végétaux à partir de sucres et d'ammoniac, et l'expérience *in vivo* ne donne pas grand'chose de plus que ce renseignement sommaire.

Etant donné les difficultés qui s'attachent à la nature même de cette question : combinaisons intermédiaires au

cours de la protéogénèse, il devient intéressant de rechercher quelles suggestions est susceptible d'apporter l'étude des réactions chimiques *in vitro*. En particulier, on doit se demander ce que devient un sucre dans un milieu contenant de l'ammoniac.

Le petit nombre de renseignements connus jusqu'à présent autorisait un nouvel effort dans ce sens.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LE PASSAGE DE L'AZOTE DU MONDE MINÉRAL AU MONDE VIVANT ⁽¹⁾

§ 1. — LES SOURCES D'AZOTE

Les sources d'azote que les végétaux trouvent à leur disposition dans la nature sont l'azote de l'air, le carbonate et le nitrate d'ammonium contenus dans l'air à état de traces (de 1 à 3 mg. pour 100 m³), les azotates, azotites, sels ammoniacaux, matières organiques azotées contenus dans le sol.

Azote atmosphérique. — La fixation de l'azote atmosphérique est le privilège de certains microorganismes (*rhizobium radiculicola* vivant en symbiose avec les racines des légumineuses ; bactéries libres anaérobies et aérobies, ou vivant en association avec des algues). Grâce à eux, la terre ne s'appauvrit pas en substances azotées, du moins au-dessous d'une certaine limite, et comme ils ne peuvent effectuer la synthèse des sucres, leur sort et celui des autres êtres vivants sont étroitement liés. Cette fixation d'azote s'accompagne d'une destruction de sucre qui apporte de l'énergie. Le rapport du poids d'azote fixé au poids de sucre consommé, variable avec l'espèce et les conditions de culture peut atteindre 5/100.

(1) Voir M. MOLLIARD, *La Nutrition de la plante*, t. IV. Cycle de l'azote, Doin, Paris, 1925).

Ammoniac de l'air. — L'ammoniac existe dans l'air à l'état de fines poussières de carbonate, de nitrate et de nitrite d'ammonium. D'après Schloesing, la teneur de l'air en ammoniac, variable avec la direction du vent et les diverses conditions atmosphériques, atteint de 1 à 3 mg. par 100 m³. L'eau de pluie en entraîne une partie, car elle peut en contenir 1 mg. 86 par litre.

D'autre part, de nombreuses expériences montrent que la feuille peut absorber l'ammoniac gazeux, ou dissous dans des gouttes d'eau qui la mouillent, et l'utiliser au développement de la plante. Il en est probablement de même pour l'ammoniac contenu à l'état de traces dans l'air.

Ammoniac, nitrites et nitrates du sol. — La dégradation des substances azotées des animaux et des végétaux donne naissance à des sels ammoniacaux que des microorganismes transforment, pour la majeure partie, en nitrites et en nitrates. Ces trois catégories de substances présentes dans le sol proviennent également du carbonate, du nitrite et du nitrate d'ammonium contenus dans l'air et que le sol absorbe directement ou que les pluies précipitent (50 kg. d'ammoniac par hectare et par an).

D'après Boussingault, 1 kg. de terre arable contient en moyenne :

Azote organique	1 430 mg.
Azote ammoniacal	4 mg.
Azote nitrique.	40 mg.

L'expérience montre que les végétaux verts peuvent se développer normalement sur une terre contenant uniquement comme substance azotée, soit un sel ammoniacal, soit un nitrite, soit un nitrate. Grâce à des précautions minutieuses (stérilisation du milieu nutritif et des graines), on élimine d'ailleurs dans ces expériences les micro-organismes fixateurs de l'azote atmosphérique et les ferments nitreux et nitriques.

On a pendant longtemps tenu l'ammoniac pour un mauvais aliment azoté de la plante, et même pour un poison (à partir de 0,5 à 1 0/0), tandis que les nitrates semblaient constituer l'aliment de choix.

Prianichnikow a montré que cette infériorité apparente des sels ammoniacaux provient d'un phénomène secondaire : la racine absorbe plus rapidement l'ammoniac que l'acide qui lui est combiné, si bien que le milieu de culture, s'acidifiant rapidement, devient nocif. Lorsqu'on assure la neutralité constante de ce milieu, par son renouvellement continu, ou bien par addition d'un tampon tel que le carbonate de calcium, c'est au contraire le sel ammoniacal qui assure le développement le plus rapide de la plante.

Des observations identiques se rapportent à l'utilisation des nitrites (Tréboux).

On peut donc admettre que l'azote ammoniacal est plus facilement assimilé que l'azote nitreux, et celui-ci plus facilement que l'azoté nitrique.

Azote organique du sol. — La majeure partie de l'azote du sol (1 430 mg. sur 1 474) se trouve à l'état de combinaisons organiques mal connues auxquelles on donne le nom d'humus. Comme cet azote se trouve surtout sous forme amidée, il est probable que le principal rôle de l'humus consiste à fournir de l'ammoniac.

D'ailleurs les essais de culture dans un milieu contenant comme seule source d'azote des matières organiques ont donné des résultats divers. C'est ainsi que M. Molliard a montré que, vis-à-vis du radis, la xanthine se comporte comme un poison, tandis que l'urate de sodium, combinaison très voisine de la précédente, provoque un développement des graines plus intense que le chlorure d'ammonium ou le nitrate de sodium.

Les seules sources d'azote utilisées par les végétaux, dont nous nous occuperons sont l'ammoniac, les nitrites et les nitrates. Ces substances pénètrent dans la racine, puis de là

dans toutes les parties de la plante, et leur assimilation commence. Ce sont les étapes de cette assimilation que nous allons suivre.

§ 2. — RÉDUCTION DES NITRITES ET DES NITRATES

La première transformation chimique subie par les nitrites et les nitrates est une réduction conduisant, en partie tout au moins, à l'ammoniac. Il est d'ailleurs possible que les nitrites et les nitrates passent intégralement par le stade ammoniac. Ces trois catégories de substances contribuant indifféremment à former les mêmes protéines, il est probable que leur évolution passe par un même stade.

Un grand nombre d'expériences sur diverses espèces de plantes et divers organes montrent la réduction des nitrates et la formation corrélative d'ammoniac.

Par exemple, on suit dans le cours du temps la composition chimique des différentes parties d'une plante (tomate), dont on fait plonger la racine dans une solution de nitrates, après avoir provoqué la disparition de l'ammoniac, des nitrites et des nitrates par un jeûne d'azote prolongé. Des nitrates apparaissent dans tous les organes, puis au sommet des rameaux, des nitrites. Ces derniers gagnent à leur tour tous les organes, et de l'ammoniac apparaît et s'accumule. Puis nitrites et ammoniac décroissent peu à peu, en même temps qu'apparaissent des acides aminés et amidés (asparagine).

Dans la bourrache cultivée normalement, la proportion de nitrate passe par un maximum au moment de la floraison. La quantité de protéines augmente, puis la fructification terminée, les nitrates s'accumulent à nouveau.

La réduction des nitrates a lieu à l'obscurité, mais la lumière l'accélère. Il est intéressant de noter que dans le cas

des feuilles de betterave, d'après Laurent, les radiations ultra-violettes sont seules actives, tandis que c'est la lumière visible qui provoque la synthèse chlorophyllienne.

La réduction des nitrates à la lumière augmente la proportion de l'oxygène expiré par la plante.

Enfin des extraits végétaux (tomate) peuvent provoquer *in vitro* la réduction des nitrates.

§ 3. — FORMATION D'ACIDE CYANHYDRIQUE

Certains végétaux contiennent CNH libre (jusqu'à 350 g. dans un individu de *Pangium edule*). Treub voyait en ce composé le premier terme organique formé au cours de la synthèse des produits azotés. Cette hypothèse repose sur les faits suivants.

L'acide cyanhydrique se forme dans la feuille, car si on vient à pratiquer une incision dans le liber, ce qui arrête le courant de sève descendant, il s'accumule au-dessus de l'incision. La conclusion précédente est encore confirmée par le fait que la lumière en provoque la synthèse, tandis qu'il disparaît à l'obscurité.

D'autre part, l'acide cyanhydrique paraît formé à partir d'un nitrate provenant de la racine, car si on empêche, par le sectionnement d'une nervure, le courant ascendant d'arriver dans la feuille, celle-ci ne forme plus d'acide cyanhydrique.

Si les conclusions de Treub sont exactes, dans les cas en nombre restreint où la plante contient de l'acide cyanhydrique, on ne saurait affirmer que l'élaboration de ce terme intermédiaire soit générale. Inversement, son absence chez la plupart des végétaux n'infirme pas l'hypothèse de Treub, car on ne peut espérer trouver dans la plante des échantillons de tous les termes intermédiaires, en quantité décelable par nos méthodes actuelles.

Notons encore qu'un grand nombre de plantes et de graines contiennent des substances dites cyanogénétiques parce qu'elles fournissent de l'acide cyanhydrique par hydrolyse. C'est ainsi que l'amygdaline des amandes amères se dédouble sous l'action de l'émulsine en glucose, benzaldéhyde et acide cyanhydrique.



Treub pensait que ces substances cyanogénétiques jouent le rôle de réserves azotées, mais il n'existe pas d'expériences concluantes à ce sujet.

§ 4. — FORMATION D'ASPARAGINE ET DE DIVERS ACIDES AMINÉS

Par hydrolyse des protéines sous l'action de diverses diastases, on obtient la série bien connue des acides aminés. Plus particulièrement, la germination s'accompagne de l'hydrolyse des protéines en réserve dans la graine, conduisant surtout à l'asparagine dans les conditions normales, c'est-à-dire en présence d'oxygène.

Il est naturel de se demander si le processus inverse peut avoir lieu, qui aboutirait à la synthèse des protéines.

En faveur de cette hypothèse, c'est un fait qui paraît général que l'accroissement de la quantité d'amides, parmi lesquelles l'asparagine est toujours en proportion prépondérante, précède la protéogenèse. Cette accumulation d'asparagine a même lieu dans des plantules dépourvues de leurs cotylédons et cultivées sur un milieu nitraté ou ammonié. Enfin, la nutrition azotée des plantes vertes à partir de certains acides aminés, ou amidés est possible.

§ 5. — RÔLE DE LA LUMIÈRE ET DES SUCRES

Nous avons vu que la lumière accélère la réduction des nitrates. Il est facile de montrer qu'elle accélère aussi la

protéogénèse. Pour cela on détermine la variation de teneur en azote organique d'une plante maintenue, soit à l'obscurité, soit à la lumière. En opérant sur des tiges de pomme de terre sectionnées, Laurent a obtenu des résultats particulièrement nets : cette teneur augmente à la lumière et reste constante à l'obscurité, et cela quel que soit le milieu dans lequel on plonge la tige de pomme de terre (eau pure, sel ammoniacal, ou nitrate).

D'autre part, la lumière provoque, chez les plantes vertes, la synthèse des sucres à partir de l'acide carbonique et de l'eau. Cela nous amène à poser cette question : la lumière intervient-elle directement dans l'union de l'azote et du carbone, ou bien n'est-elle efficace que dans la mesure où elle provoque la formation de sucres.

C'est la dernière hypothèse qui paraît actuellement la plus vraisemblable. Le lupin, par exemple, contrairement au pois ou au maïs se développe mal sur des milieux contenant des sels ammoniacaux d'acides forts, même si on maintient la neutralité du milieu par addition de carbonate de calcium, ainsi que nous l'avons vu plus haut. Or, le lupin, particulièrement pauvre en sucres, se développe dans les mêmes conditions très normalement, si on provoque une assimilation chlorophyllienne active, ou bien si on alimente artificiellement en glucose la plante laissée à l'obscurité.

Des graines riches en sucres se comportent comme le lupin, si on réduit leurs réserves hydrocarbonées en les faisant germer un certain temps sur de l'eau distillée, ce qui généralise la portée des expériences précédentes.

Enfin, l'intervention des sucres peut être mise en évidence sur des feuilles d'*Helianthus*, dans le cas où des nitrates constituent la source d'azote. A l'obscurité, ces feuilles plongées dans un liquide nutritif ne s'enrichissent en protéines que si ce liquide contient à la fois des nitrates et des sucres.

Dans le cas des végétaux renfermant CNH , la formation de ce corps semble également liée directement à la présence de sucre, et indirectement à l'action de la lumière.

Il serait cependant bien surprenant que la lumière solaire, riche en rayons ultra-violets, ne provoquât aucune réaction de synthèse où l'azote interviendrait, et en effet quelques observations viennent à l'appui de cette hypothèse.

Nous avons déjà vu que dans la feuille de betterave, c'est la lumière ultra-violette qui provoque la réduction des nitrates, alors que la lumière visible est responsable de la synthèse des sucres.

Le blé ne forme de protéines qu'à la lumière, et cette formation a lieu même en l'absence de gaz carbonique. D'après Godlewski, à l'obscurité, tout au plus, aurait-on accumulation de quelques acides aminés. Cette observation semble d'ailleurs confirmée par le fait que dans les feuilles, et même les parties d'une feuille dépourvues de chlorophylle, la proportion de nitrates et d'azote organique soluble par rapport à l'azote organique total est toujours beaucoup plus grande que dans les parties vertes. Cela pourrait d'ailleurs tenir simplement à la digestion des protéines préalablement formées.

La formation des substances protéiques nécessite la présence d'oxygène, sans qu'il soit possible de déterminer le rôle de celui-ci.

§ 6. — CONCLUSIONS

Un fait paraît se dégager de l'étude *in vivo* de la protéogénèse. Elle s'effectue à partir de sucres et d'ammoniac, tout au moins en partie. On serait peut-être tenté de penser qu'il en est toujours ainsi, mais ce serait probablement céder à un besoin de simplicité, dont la nature ne nous donne pas souvent l'exemple.

Nous allons maintenant examiner dans quelle mesure les résultats exposés dans ce chapitre sont confirmés par des expériences *in vitro* et rechercher les suggestions susceptibles d'être apportées par la chimie en ce qui concerne la question qui nous préoccupe.

CHAPITRE II

DONNÉES EXPÉRIMENTALES « IN VITRO », CONCERNANT LA SYNTHÈSE DES PROTÉINES

§ 1. — RÉDUCTION DES NITRATES ET NITRITES A L'ÉTAT D'AMMONIAC

O. Baudisch [1] a montré que les nitrites sont réduits par le glucose à 80°, en présence de phosphate et de carbonate de sodium, ainsi que d'une trace d'un sel de fer qui joue le rôle de catalyseur. De l'ammoniac prend naissance, ainsi que des matières organiques azotées, probablement des amino-aldéhydes.

On peut remplacer le glucose par d'autres hexoses ou par le lactose, et non par le saccharose ou la mannite.

Les nitrates ne peuvent être réduits dans les mêmes conditions, mais on connaît des diastases oxydo-réductrices qui provoquent leur réduction à l'état de nitrites. Cette restriction ne diminue donc en rien l'intérêt des expériences de Baudisch. Celles-ci, d'autre part, ont le mérite d'attirer l'attention sur le rôle du fer et sur la formation possible d'amino-aldéhydes dans la cellule. Cette catégorie de corps présente une grande activité chimique.

§ 2. — FORMATION D'ACIDE CYANHYDRIQUE

Ainsi que nous l'avons signalé, Treub voyait dans l'acide cyanhydrique l'un des premiers termes azotés formés par la plante. Armand Gautier supposait que l'agent de réduction

était le formol, lui-même terme de passage fugitif supposé au cours de la synthèse chlorophyllienne.



In vitro, on a observé la formation de l'acide cyanhydrique lorsqu'on réduit l'acide nitrique par divers composés carbonés (phénol, sucre, humus, paraffine), et par le carbone lui-même.

Dans le cas où on fournit exclusivement de l'ammoniac à la plante, Læw supposait d'abord une décomposition de l'anhydride carbonique sous l'action de la lumière, sensibilisée par la chlorophylle, et donnant naissance à l'oxyde de carbone,



puis par union avec l'ammoniac et déshydratation, à l'acide cyanhydrique



Les travaux de M. R. Fosse [2], concernant l'oxydation de diverses matières organiques en présence d'ammoniac, permettent d'envisager sous un jour nouveau, non seulement la formation du nitrile formique, mais encore celle de l'urée.

Une solution contenant un hydrate de carbone, comme le formol, le glucose, la dextrine, l'amidon, et de l'ammoniac, traitée par un permanganate à la température du laboratoire, donne en effet de l'acide cyanhydrique, de l'acide cyanique et de l'urée. Ce dernier corps est en proportion notable, quant à l'acide cyanhydrique, pour en obtenir une quantité importante, il faut opérer en présence d'un sel de cuivre ou d'argent. Peut-être dans tous les cas, la formation de l'acide cyanhydrique précède-t-elle celle de l'acide cyanique et celle de l'urée.

Ainsi, des travaux de M. Fosse, il résulte que l'acide cyanhydrique et l'urée peuvent être formés par synthèse directe, tout au moins si l'on met en œuvre d'énergiques oxydants tels que le permanganate de potassium.

§ 3. — FORMATION DE SUBSTANCES AZOTÉES AU COURS
DE LA SYNTHÈSE PHOTOCIMIQUE DES SUCRES

Ainsi que nous l'avons vu dans le chapitre précédent, on ne peut exclure que la lumière intervienne directement dans l'union de l'azote au carbone. A l'appui de cette façon de voir, on doit mentionner les expériences de Baly [3]. Une solution saturée de CO^2 , contenant en suspension un solide coloré capable d'adsorber celui-ci (carbonates de nickel ou de cobalt) donne des substances sucrées sous l'action de la lumière visible. Si on ajoute au préalable à la solution, du carbonate d'ammonium ou du nitrate de potassium, il se forme en outre des matières organiques azotées.

§ 4. — FORMATION DE LA FONCTION AMIDE.

On peut envisager la formation de la fonction amide par déshydratation des sels ammoniacaux. Par exemple l'asparagine pourrait tirer son origine de la déshydratation de l'aspartate d'ammonium :



A notre connaissance, on n'a pu réaliser à l'aide de diastases *in vitro*, que la réaction inverse.

Nous avons vu que l'oxydation permanganique des sucres, en présence d'ammoniaque, donne de l'urée et parfois de l'oxamide.

L'oxydation de divers aldéhydes ou alcools en milieu ammoniacal, par un persulfate ou un permanganate donne les amides correspondantes [4].

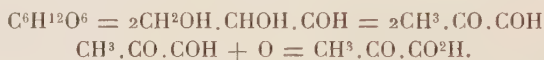
Enfin, nous verrons plus loin avec quelques détails que l'oxydation du lévulose en milieu ammoniacal par le bleu de

méthylène et l'oxygène de l'air donne un corps contenant une fonction amide (p. 45).

Le bleu de méthylène est particulièrement intéressant, car il présente une certaine analogie avec la cystine et le glutathion qui semblent jouer un rôle important dans les processus chimiques à l'intérieur de la cellule vivante.

§ 5. — FORMATION DES AMINO-ACIDES

A. Formation de la fonction amine par réduction de la fonction cétone en présence d'ammoniac. — L'acide pyruvique est un produit biologique de transformation du glucose. Schématiquement, on peut concevoir sa formation à partir de ce dernier par dédoublement en deux molécules d'aldéhyde glycérique, déshydratation conduisant au méthylglyoxal et oxydation consécutive :



MM. Aubel et Bourguel sont parvenus à le réduire par l'hydrogène et le palladium colloïdal. En présence d'ammoniac prend alors naissance l'alanine [5], acide aminé constamment présent dans les produits de l'hydrolyse des protéines



Auparavant, Knoop avait réalisé la synthèse de la phénylalanine, en traitant l'acide phénylpyruvique en milieu ammoniacal par l'hydroxyde ferreux [6].

B. Réduction des nitrates par les sucres en présence de fer. — Rappelons que les expériences de Baudisch indiquées p. 11 conduisent probablement à des aminoaldéhydes qui par oxydation donnent facilement des amino-acides.

C. *Hypothèses diverses proposées* (1). — Il n'est évidemment pas difficile d'imaginer de nombreuses réactions conduisant aux amino-acides, mais celles-ci gagneraient en intérêt s'il était possible de les effectuer dans des conditions se rapprochant de celles mises en œuvre *in vivo*. Pour la plupart d'entre elles, ce n'est pas le cas, si même elles sont réalisables expérimentalement. Voici cependant quelques-unes de ces réactions hypothétiques, proposées par divers auteurs.

1° Sous l'influence de la lumière, on aurait décomposition de l'anhydride carbonique en oxyde de carbone et oxygène



L'oxyde de carbone qui réagit sur les bases pour donner des formiates pourrait dans le cas de l'ammoniac fournir du formiate d'ammonium



Par hydratation et perte d'hydrogène, on aurait de l'oxamate d'ammonium



Celui-ci par réduction donnerait naissance à un sel ammoniacal du glycécolle



2° La formation d'oxyde de carbone, au cours de la synthèse chlorophyllienne, admise à l'origine du processus précédent est douteuse. On peut admettre plus facilement que cette synthèse commence par la formation d'aldéhyde formique, puisque les sucres peuvent être envisagés comme des produits de polymérisation de ce corps

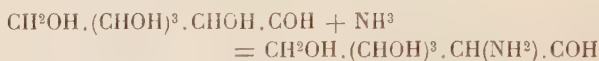


(1) Voir COMBES, *La Cellule végétale* (Armand Colin, Paris).

Par condensation de deux molécules seulement de formol, l'aldéhyde glycolique pourrait prendre naissance. Il réagirait ensuite sur l'ammoniac pour donner l'aldéhyde amino-acétique et de l'eau



D'une façon analogue, le glucose fournirait la glucosamine



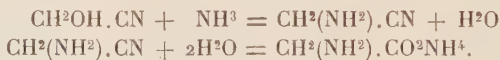
A partir de ce corps, il est facile d'imaginer des réactions conduisant à des amino-acides. Par exemple, une oxydation de la fonction aldéhyde suivie d'une réduction des fonctions alcools conduirait à la leucine



3° Si on considère le nitrile formique comme un intermédiaire dans la synthèse des protéines, on peut imaginer sa combinaison avec l'aldéhyde formique



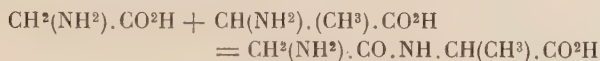
Le corps formé serait le nitrile de l'acide glycolique, qui par action de l'ammoniac fournirait le nitrile du glycolle, puis par hydratation, le glycolle lui-même



§ 6. — SYNTHÈSE DES POLYPEPTIDES

Il entre probablement dans la constitution des protéines, de longues chaînes d'acides aminés liés entre eux par des fonctions amides. Cette structure semble d'ailleurs confirmée par l'étude des diagrammes de diffraction de rayons X.

Expérimentalement on a pu effectuer la synthèse de polypeptides, combinaisons analogues aux protéines, mais constituées par l'union d'un petit nombre seulement d'acides aminés. Par exemple, la glycyl-alanine vient de l'union d'une molécule de glycolle et d'une molécule d'alanine avec élimination d'une molécule d'eau.



Schützenberger a obtenu des polypeptides par condensation de la leucine avec l'urée, à 125° en présence d'anhydride phosphorique.

Emil Fischer fit la synthèse d'un grand nombre de polypeptides de plus en plus compliqués, mais en faisant intervenir des réactifs tels que le chlorure de thionyle.

Du point de vue biologique, les travaux de L. C. Maillard [7] présentent un réel intérêt.

Les corps gras, si répandus chez les êtres vivants, se forment probablement dans la cellule à partir des acides gras et de la glycérine, peut-être grâce à la diastase même qui les saponifie.

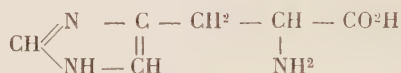
On conçoit que la cellule fabrique également des éthers glycériques d'acides aminés, mais d'après Maillard, ceux-ci sont instables et se décomposent en donnant des polypeptides et de la glycérine. Le résultat global serait en somme une déshydratation des acides aminés, sous l'influence de la glycérine, donnant naissance à des polypeptides.

Maillard a pu réaliser cette synthèse en chauffant à 170° un mélange d'acides aminés et de glycérine. Au-dessous de 170°, la condensation se produit, mais beaucoup plus lentement.

La glycérine semble pouvoir être remplacée par les sucres.

§ 7. — SYNTHÈSE DES NOYAUX COMPLEXES
FORMÉS DANS L'HYDROLYSE DES PROTÉINES

L'hydrolyse des protéines fournit non seulement des acides aminés simples tels que le glycocolle ou l'alanine, mais encore ces acides aminés conjugués à certains noyaux azotés, tels que l'imidazol dans l'histidine ;



ou bien à des combinaisons complexes ne contenant pas la fonction amino-acide, telles que les bases puriques dérivées du noyau purine, etc...

Leur synthèse *in vitro* a été réalisée, mais en général par des moyens qui s'écartent beaucoup de ceux que la nature peut utiliser. Il faut cependant faire exception pour le noyau imidazol.

Nous entrons ici dans le cœur même de notre sujet ; aussi nous envisagerons d'abord l'importance biologique de ce noyau, puis les transformations subies par les sucres en milieu ammoniacal, celles-ci aboutissent souvent à la formation d'imidazols.

CHAPITRE III

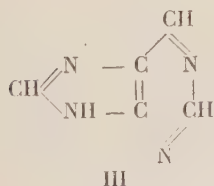
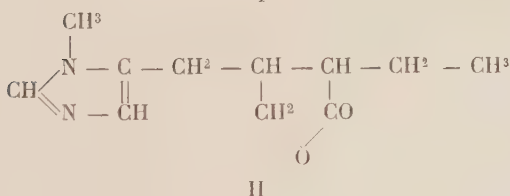
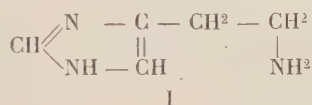
GÉNÉRALITÉS SUR LES IMIDAZOLS

§ 1. — INTÉRÊT BIOLOGIQUE DU NOYAU IMIDAZOLS

Le noyau imidazol apparaît comme un constituant indispensable de la matière vivante. L'hydrolyse des protéines fournit en effet de façon constante l'histidine (voir formule p. 18) qui peut être considérée comme un noyau imidazol dont un atome d'hydrogène aurait été substitué par un reste d'alanine.

L'histamine de l'ergot de seigle est un amino-éthyl-imidazol (I)

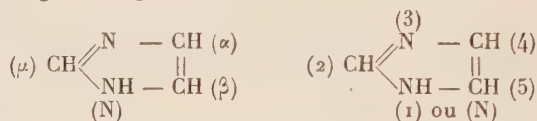
La pilocarpine, alcaloïde des feuilles du jaborandi (*Pilocarpus pennatifolius*) auquel on attribue la formule (II), contient le noyau imidazol.



Conjugué à la pyrimidine, l'imidazol forme la purine (III), noyau fondamental de toute une série de combinaisons biochimiques (adénine, xanthine, acide urique, etc...) que l'on obtient principalement par hydrolyse des nucléoprotéines.

§ 2. — NOMENCLATURE ET PROPRIÉTÉS FONDAMENTALES
DES IMIDAZOLS

Pour faciliter la nomenclature, on utilise un des deux numérotages indiqués ci-dessous.



Celui de droite est utilisé exclusivement depuis plusieurs années.

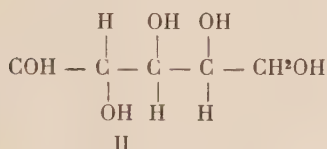
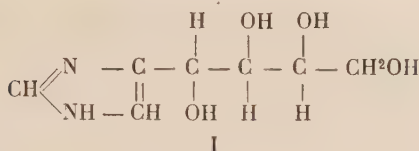
On donne également aux imidazols le nom de glyoxalines.

Nous rencontrerons des imidazols dans lesquels un atome d'hydrogène est substitué par une longue chaîne tétrahydroxybutyl — (CHOH)³.CH²OH.

Pour distinguer entre les différentes formes stéréochimiques de cette chaîne, nous ferons précéder son nom d'un préfixe : *d*-arabino, *d*-lyxo, etc... indiquant qu'elle est identique au point de vue stéréochimique à celle qui entre dans la constitution de l'un des pentoses : *d*-arabinose, *d*-lyxose etc.

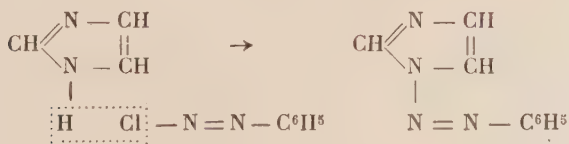
Afin d'éviter tout malentendu en ce qui concerne le nombre des atomes de carbone de la chaîne, nous mettrons de plus le préfixe entre parenthèses. On pourrait généraliser facilement aux chaînes polyhydroxyalcoyl quelconques.

Par exemple, nous donnerons au corps (I) le nom de (*d*-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol, car sa chaîne tétrahydroxybutyl est identique, au point de vue stéréochimique à celle du *d*-arabinose (II).



L'imidazol et beaucoup de ses dérivés sont des substances à réaction alcaline, fournissant avec les acides des sels bien définis, mais par contre, l'atome d'hydrogène lié à l'azote (position 1) doit à sa position en β , à la fois par rapport à un groupe vinyène $-\text{CH}=\text{CH}-$ et à un groupe carbime $-\text{N}=\text{C}-$ la propriété d'être facilement substituable par un métal. C'est ainsi que les imidazols donnent avec les oxydes d'argent, de zinc, ou de cuivre, dissous dans l'ammoniaque, des précipités insolubles contenant le métal.

Grâce à cet atome d'hydrogène, les imidazols copulent avec les sels de diazonium en milieu sodique [8] pour donner des substances fortement colorées (colorants du groupe azoïque). Dans le cas d'un sel de diazobenzène, la coloration est rouge sang.



Il est commode d'utiliser l'acide p-diazobenzène-sulfonique, qu'on prépare facilement pur, et qu'on peut conserver assez longtemps.

Cette dernière réaction extrêmement sensible, ainsi que la précipitation par le nitrate d'argent ammoniacal, constituent deux indications souvent utilisées dans la pratique.

Enfin, c'est à l'atome d'hydrogène envisagé qu'on peut attribuer l'impossibilité de séparer des dérivés isomères de substitution en (4) ou en (5). Tout se passe comme si l'atome d'hydrogène sautait facilement d'un atome d'azote à l'autre.

Les propriétés des imidazols liées au caractère spécial de l'atome d'hydrogène uni à l'azote disparaissent si on remplace cet hydrogène par un radical quelconque.

Par exemple, le N-méthyl-imidazol ne donne pas de précipité avec le nitrate d'argent ammoniacal, pas de coloration rouge avec le p-diazobenzène sulfonate de sodium, et on peut séparer le N-méthyl-4-méthyl-imidazol du N-méthyl-5-méthyl-imidazol.

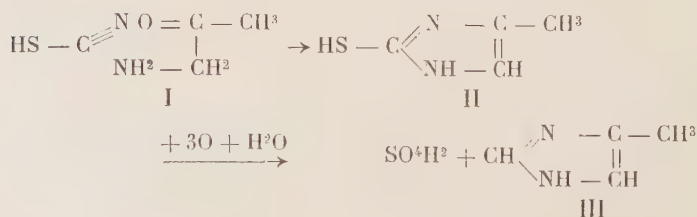
Notons que le noyau imidazol possède une stabilité comparable à celle du noyau benzénique. Il n'est détruit ni par les acides, ni par les alcalis. Il peut être nitré, chloré, bromé. Il ne peut être réduit, mais le permanganate de potassium le détruit.

§ 3. — PRÉPARATION DES IMIDAZOLS

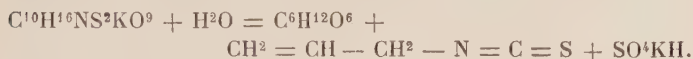
Parmi les quelques réactions générales qui permettent d'obtenir des imidazols, retenons-en deux comme susceptible de prendre place dans la cellule vivante.

1° Par condensation des α -aminoaldéhydes ou aminocétones avec l'acide sulfocyanique (I) se forment des mercaptan-2-imidazols (II).

L'oxydation de cette combinaison par l'eau oxygénée élimine le soufre à l'état d'acide sulfurique, ce qui donne l'imidazol (III).

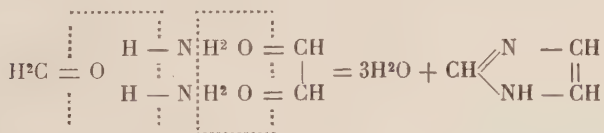


L'acide sulfocyanique $C \equiv N - S - H$ existe en petite quantité à l'état libre dans l'estomac humain. On trouve à l'état de combinaison, dans certains glucosides, un corps hypothétique à l'état libre, très voisin du précédent : l'acide isosulfocyanique $S = C = N - H$. Par exemple la myrosine de la moutarde se dédouble par hydrolyse en glucose, isosulfocyanate d'allyle et sulfate acide de potassium.



2° Par condensation des α -dicétones avec l'ammoniac et un aldéhyde, on obtient des imidazols. Cette réaction a lieu à la température ordinaire.

C'est ainsi que Dubus découvrit ce groupe de composés en mettant en présence le glyoxal, l'ammoniac et le formol.



Comme nous le verrons dans la suite, c'est en définitive à une telle réaction qu'on peut attribuer la formation d'imidazols à partir d'un sucre et d'ammoniac.

CHAPITRE IV

ETAT ACTUEL DE NOS CONNAISSANCES SUR LES TRANSFORMATIONS SUBIES PAR LES SUCRES EN MILIEU AMMONIACAL

Nous avons vu que l'étude du métabolisme de l'azote chez les végétaux verts amène à cette conclusion que les protéines prennent naissance à partir du système sucre-ammoniac. Cette question se pose alors immédiatement : que se passe-t-il au point de vue chimique quand on met un sucre dans un milieu contenant de l'ammoniac ? La réponse sera d'ailleurs d'autant plus intéressante que les caractéristiques chimiques et physiques du milieu expérimenté, notamment la température et le pH, constitueront un modèle moins éloigné de la cellule vivante.

On trouvera résumé dans ce chapitre les quelques mémoires publiés sur cette question. Le petit nombre des travaux justifiait un nouvel effort dans le même sens.

§ I. — OXYDATION DES SUCRES EN MILIEU AMMONIACAL PAR UN PERMANGANATE

Les résultats relatifs à l'oxydation des sucres en milieu ammoniacal par le permanganate de potassium sont dus principalement à M. R. Fosse. Ils ont été résumés déjà (p. 12).

Rappelons seulement qu'il se forme dans les conditions expérimentales où se place M. Fosse, de l'acide cyanhydrique, de l'acide cyanique, de l'oxamide, et surtout de l'urée.

§ 2. — FORMATION DE PYRAZINE ET DE PYRIDINE
A PARTIR DU GLUCOSE ET DE L'AMMONIAQUE

Tanret, le premier a signalé la formation de combinaisons basiques azotées quand on fait chauffer un mélange de sucres et d'ammoniaque [9] et [10]. Cette étude a été ensuite reprise par P. Brandes et C. Støhr [11] qui établirent définitivement la constitution des composés formés. Une solution de 600 g. de glucose dans 1 000 g. d'ammoniaque à 25 o/o, portée pendant 35 heures à 100°, fournit 25 g. d'un mélange de pyrazine, méthylpyrazine, diméthylpyrazine, pyridine.

§ 3. — FORMATION DE MÉTHYL-4-IMIDAZOL
A PARTIR DES SUCRES EN PRÉSENCE D'OXYDE DE ZINC AMMONIACAL

Cette question a fait l'objet d'une série de mémoires dus à MM. Adolf Windaus, F. Knoop, A. Ullrich, K. Inouye, K. Bernhauer [12] à [18].

Les conditions expérimentales sont les suivantes : dans un flacon on introduit le mélange :

Hydroxyde de zinc (préparé à partir de SO_4Zn et NH_3)	1 partie
Ammoniaque à 25 o/o	2 parties
Sucre.	1 partie

On bouche et on abandonne à la température du laboratoire, sans précautions spéciales concernant la lumière. Le liquide, tout d'abord limpide, laisse déposer peu à peu un précipité jaune-brun. La durée du traitement varie de 2 à 6 mois, car la réaction est plus rapide avec les monoses qu'avec les bioses, et même, les bioses tels que le saccharose qui ne présentent pas de groupe carbonyle libre ne donnent aucun précipité après 2 ans.

L'analyse du précipité révèle qu'il est constitué principalement par une combinaison zincique du méthyl-4-imidazol.

Dans le cas du rhamnose $\text{CH}^3(\text{CHOH})^5\text{COH}$, le précipité contient en outre un sel zincique du diméthyl-2-4-imidazol, et pour une faible part, du méthyl-2-éthyl-4-imidazol. La solution contient une combinaison de formule $\text{C}^8\text{H}^{11}\text{O}^2\text{N}$, probablement une dioxypyridine, et une autre de formule $\text{C}^6\text{H}^7\text{ON}$, probablement une oxypicoline.

Dans le cas du *d*-galactose, il se forme presque exclusivement une combinaison zincique d'un corps azoté très voisin du galactose, que Windaus et Knoop identifient à la « galactosimine » de Lobry de Bruyn et van Leent [19] :



§ 4. — FORMATION D'ACIDE IMIDAZOL-CARBONIQUE A PARTIR DU *d*-GLUCOSE EN SOLUTION D'OXYDE DE CUIVRE AMMONIACAL

A. Windaus et A. Ullrich [20] répétèrent dans le cas du *d*-glucose les expériences précédentes, en remplaçant l'oxyde de zinc par l'oxyde de cuivre.

Les concentrations sont les suivantes :

Glucose, 50 g.

Hydroxyde de cuivre (poids obtenu à partir de 250 g. de sulfate).

Ammoniaque à 25 o/o, 200 cm³.

La solution abandonnée 3 ans reste bleue et limpide. Les auteurs purent en extraire l'acide oxalique et l'acide imidazol-4-carbonique.

§ 5. — MÉCANISME DES RÉACTIONS PRÉCÉDENTES

Pour expliquer la formation du méthyl-4-imidazol, les auteurs s'opposent tout d'abord, un dédoublement de l'hexose,

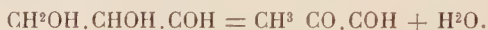
TABLEAU RÉSUMÉ DES RÉSULTATS PRÉCÉDENTS (1)

1° Sucre (1 p.) + Zn (OH) (1 p.) + NH ³ à 25 o/o (2 p.).			
Sucre (100 g.)	Durée des expériences	Poids de précipité zincique	Substances extraites du précipité
aldéhyde gly- cérique dioxycétone			méthyl 4-imidazol »
d-glucose	4 mois	26 g.	(1 mol. glucose → 1/8 mol. méthylimidazol)
d-mannose	»	»	méthyl 4-imidazol
lévulose	»	»	»
d-sorbose	»	»	»
d-galactose	45 jours	24 g.	sel de Zn de la « galacta- simine »
l-arabinose	4 mois	21 g.	méthyl-4-imidazol
l-xylose	»	»	»
rhamnose	6 mois	32 g.	méthyl-4-imidazol, dimé- thyl-2 4-imidazol. Dans la solution C ⁶ H ¹¹ O ² N et C ⁶ H ⁷ ON
maltose	6 mois 18 »	4 g. 8 7 g. 9	} méthyl-4-imidazol
lactose	6 mois 18 »	0 g. 8 1 g. 4	
saccharose, raffinose	2 ans	pas de précipité, seulement coloration jaune	
2° d-glucose (100) + Cu (OH) ² (50 g. sulfate) + NH ³ à 25 o/o.			
d-glucose	3 ans	pas de précipité	acide oxalique, acide imi- dazol-4-carbonique 4 g.
(1) Ce tableau a été constitué par moi d'après les renseignements trouvés dans les mémoires cités.			

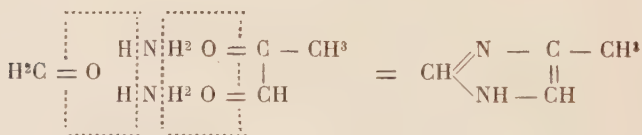
d'une part en deux molécules d'aldéhyde glycérique, et d'autre part en six molécules de formol,



puis déshydratation de l'aldéhyde glycérique accompagnée de la migration d'un atome d'hydrogène, conduisant au méthyl-glyoxal :



Un cétoaldéhyde se trouvant en présence d'ammoniac et de formol, il doit y avoir condensation et formation dans le cas présent de méthyl-4-imidazol, d'après ce que nous avons dit page 23.



Ce mécanisme proposé se trouve confirmé par les faits suivants :

1° Le rhamnose qui est un méthyl-pentose



donne naissance non seulement au méthyl-4-imidazol, mais encore au diméthyl-2-4-imidazol. La scission de ce sucre doit conduire en effet non seulement à l'aldéhyde glycérique et au formol, mais encore à l'aldéhyde éthylique. Ce dernier, en se condensant avec l'ammoniac et le méthylglyoxal, donne le diméthyl-2-4-imidazol.

2° Ce corps se forme encore si, dans le cas du glucose, on ajoute à la solution expérimentée de l'aldéhyde éthylique.

3° Le méthylglyoxal a pu être extrait de la solution zincique, dans le cas du glucose, par entraînement à la vapeur d'eau après acidification.

4° Par condensation du méthylglyoxal avec NH^3 et le for-

mol, on obtient effectivement le méthyl-4-imidazol. Si on remplace le formol par l'acétaldéhyde, il se forme alors le diméthyl-2-4-imidazol.

Dans le cas où le zinc est remplacé par le cuivre, les auteurs supposent que l'aldéhyde glycérique, formé par dédoublement du glucose, ne subit pas une déshydratation, mais une oxydation conduisant à un acide dicétonique hypothétique $\text{COH.CO.CO}^2\text{H}$.

§ 6. — INDICATIONS TECHNIQUES

Traitement des sels zinciques. — Le précipité est filtré, lavé, mis en suspension dans l'eau, traité par l'hydrogène sulfuré à saturation. Après filtration, évaporation dans le vide pour chasser H^2S , la solution concentrée est agitée avec de la potasse et de l'éther. L'extrait étheré est précipité par une solution étherée d'acide oxalique. L'oxalate est lavé et cristallisé plusieurs fois dans l'acétone à 75 o/o.

La séparation du méthyl-4-imidazol et du diméthyl-2-4-imidazol repose sur la cristallisation fractionnée des picrates.

Traitement de la solution cuprique. — La solution est évaporée à sec, le résidu dissous dans l'acide sulfurique, et la solution traitée par H^2S . Le filtrat est évaporé, agité avec l'éther qui prend l'acide oxalique. La solution aqueuse est additionnée d'un excès de baryte et évaporée pour chasser l'ammoniac. On élimine le baryum par SO^4H^2 et on précipite par l'acide phosphotungstique. Le précipité est décomposé de la façon habituelle. Il fournit l'acide imidazol-4-carbonique qui cristallise dans un mélange d'eau et d'acétone.

DEUXIÈME PARTIE

D'après les résultats exposés au chapitre précédent, les produits de transformation des sucres en milieu ammoniacal varient, comme il fallait s'y attendre, avec l'agent chimique supplémentaire introduit dans le milieu. A part l'acide oxalique, tous les produits qui ont été isolés jusqu'à présent, contiennent de l'azote. Ce sont : l'acide cyanhydrique, l'acide cyanique, l'urée, l'oxamide, des dérivés de la pyrazine et de la pyridine, plusieurs dérivés de l'imidazol.

Tous ces corps, ou des dérivés de ceux-ci entrent dans la constitution de la matière vivante, et leur diversité permet de penser, d'après le petit nombre des travaux effectuées, qu'on est loin d'en avoir épuisé la liste.

D'autre part, si on cherche à donner une signification biologique aux expériences en question, on peut objecter que le permanganate de potassium, ou une température de 100° détruisent les êtres vivants, et qu'une solution concentrée d'ammoniac et d'oxyde de zinc diffère beaucoup d'un milieu cellulaire.

Pour ces raisons, M. Pierre Girard m'a demandé de rechercher, dans une première série d'expériences, quels produits organiques azotés apparaissent au cours de l'évolution de systèmes constitués par des solutions de différents hexoses ou pentoses dans l'ammoniacal, en l'absence ou en présence d'oxydes métalliques, à la température ordinaire (15° à 20°), à l'abri de l'air, ou, au contraire, en aérant continuellement la solution ; puis d'essayer de réaliser les plus rapides des réactions au cours desquelles apparaissent des corps organiques azotés, en solution très étendue voisine de

la neutralité et toujours, bien entendu, à la température ordinaire ; enfin de tenter l'oxydation d'un sucre en présence d'ammoniac par le bleu de méthylène, composé tout à fait comparable aux nombreux transporteurs d'hydrogène que possèdent les êtres vivants et dont le glutathion et la cystine sont les mieux connus.

L'ensemble de ces recherches qui a fait l'objet de plusieurs communications à l'Académie des Sciences par M. Pierre Girard, Mlle Yvonne Garreau et moi-même [21] à [26] sera exposé dans les chapitres suivants.

CHAPITRE PREMIER

PRODUITS D'OXYDATION DE QUELQUES SUCRES PAR L'OXYDE DE CUIVRE AMMONIACAL ET L'OXYGÈNE DE L'AIR

§ 1. — DESCRIPTION DES EXPÉRIENCES

Les conditions d'une expérience sont uniformément les suivantes : dans un flacon on introduit le mélange réalisé dans les proportions ci-dessous :

Sucre	1/4 mol.-g. (45 g.)
Hydroxyde cuivrique.	1/2 » (50 g.)
Ammoniac	4 » (375 cm ³ à 20 o/o)
Eau distillée. q. s. p.	1000 cm ³

Grâce à l'ammoniaque et au sucre, l'hydroxyde de cuivre se dissout immédiatement. On fait barbotter un courant d'air dans la solution, et on abandonne ainsi à la température du laboratoire. Bientôt, une poudre verte contenant du cuivre combiné se dépose. Son volume augmente rapidement dans le cas du lévulose, plus lentement dans le cas des autres sucres, particulièrement du rhamnose.

Au bout de 15 jours à 1 mois, les réactions paraissent en général terminées (exception certaine pour le rhamnose). On procède alors à l'analyse.

Voici les sucres expérimentés :

<i>d</i> -glucose (1). . .	COH + — + + CH ² OH
<i>d</i> -mannose (2) . .	COH — — + + CH ² OH
lévulose	CH ² OH.CO — + + CH ² OH
<i>d</i> -galactose (2) . .	COH + — — + CH ² OH
<i>l</i> -arabinose	COH + — — CH ² OH
<i>l</i> -xylose	COH + — + CH ² OH
rhamnose	COH + + — — CH ³
dioxyacétone (3) .	CH ² OH.CO.CH ² OH

§ 2. — RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES

Les différents produits isolés et les rendements sont indiqués dans un tableau p. 46. Voici quelques renseignements complémentaires sur chacun d'eux.

Acide oxalique. — Nous avons vu que A. Windaus et Ulrich l'avaient obtenu par oxydation du glucose par l'oxyde cuivrique ammoniacal à l'abri de l'air.

Tous les sucres étudiés ici fournissent l'acide oxalique avec des rendements assez variables. On le trouve dans la solution, jamais dans le précipité.

Imidazol (I). Tous les sucres étudiés, sauf la dioxyacétone fournissent l'imidazol. L'exception relative à la dioxyacétone tient peut-être à ce que la quantité mise en expérience était seulement de quelques grammes.

On trouve toujours l'imidazol dans la solution bleue, et s'il est en quantité importante, également dans le précipité vert.

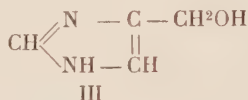
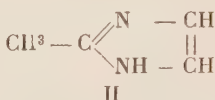
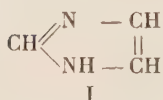
(1) Le signe + représente comme d'habitude le groupe $\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{—C—} \\ | \\ \text{H} \end{array}$ et le signe — représente le groupe $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{—C—} \\ | \\ \text{OH} \end{array}$.

(2) Les expériences sur le *d*-mannose et le *d*-galactose ont été faites en commun avec Mlle Y. Garreau.

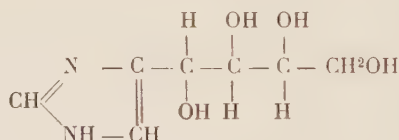
(3) Les sept premiers sucres ont été achetés dans le commerce. Je remercie Mme Y. Khouvine d'avoir bien voulu me donner quelques grammes de dioxyacétone préparée par elle.

Méthyl-2-imidazol (II). Ce composé a pu être extrait des produits de l'oxydation du rhamnose, à l'exclusion des autres sucres ; cela doit venir de ce que le rhamnose possède seul un groupe méthyl.

Hydroxyméthyl-4-imidazol (III). Le lévulose et la dioxyacétone, seuls, donnent ce composé [27]. Si on examine les formules de ces deux sucres, on voit que seuls parmi ceux expérimentés ils possèdent une fonction cétone.



(*d-arabino*)tétrahydroxybutyl-4-imidazol. — Le *d*-glucose, le *d*-mannose et le lévulose fournissent ce composé,



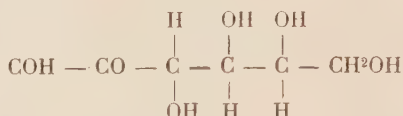
avec un rendement notable, tandis que le quatrième hexose expérimenté, le *d*-galactose, fournit une combinaison de composition centésimale identique, mais de propriétés différentes.

Jusqu'à présent le (*d-arabino*)tétrahydroxybutyl-4-imidazol n'avait pas été décrit. Hermann Pauli et Ernst Ludwig [28] et [29] avaient cependant tenté, mais sans succès de le préparer et l'avaient appelé « glucimidazol ». Le procédé employé par eux consistait à faire réagir tout d'abord le cyanate d'argent sur le chlorhydrate de glucosamine. Il se forme le glucimidazolone, qu'il vaudrait mieux appeler pour éviter des confusions (*d-arabino*)tétrahydroxybutyl-4-imidazolone (I).

Par action du rhodanate de K se forme ensuite le thiol-2- (*d-arabino*)tétrahydroxybutyl-4-imidazol (II).

à celle du *d*-arabinose, mais à celle du *d*-lyxose : le (*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4 imidazol. C'est ce que l'expérience a vérifié.

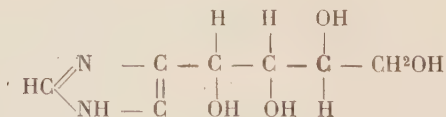
5° Le (*d*-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol a pu être obtenu par une méthode générale de préparation des imidazols : condensation des α dicétones, ici le *d*-glucosone,



avec l'ammoniac et le formol.

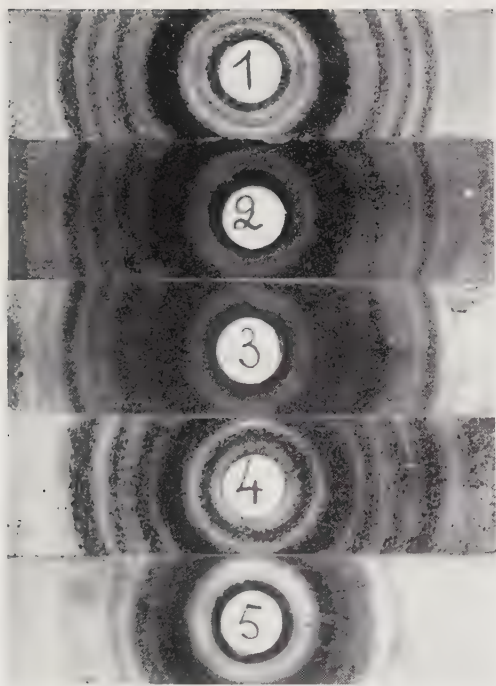
Le produit obtenu dans ces dernières conditions n'a pu être purifié à fond, son point de fusion restant inférieur de 2° à celui du corps obtenu à partir des sucres et de l'oxyde de cuivre ammoniacal, mais le mélange des deux augmente ce point de fusion de 1° et les diagrammes de diffraction de rayon X ⁽¹⁾ sont superposables ; si bien que l'identité des deux substances ne fait aucun doute.

(*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol. — A partir du *d*-galactose, seul, on peut extraire une très petite quantité d'une substance de composition centésimale identique à celle du (*d*-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol, mais différant cependant de celui-ci par ses propriétés physiques ($F = 132^\circ$ au lieu de 164° , diagrammes de diffraction de rayons X distincts). C'est probablement le (*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol



dont on a prévu la formation à partir du *d*-galactose au paragraphe précédent. Ce corps n'avait pas encore été signalé dans la littérature.

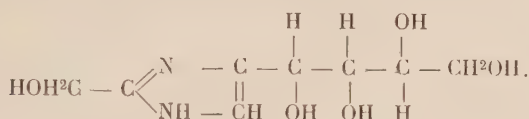
(¹) Les diagrammes reproduits ci-contre ont été faits obligeamment par M. G. Champetier auquel j'adresse mes remerciements.



Diagrammes de rayons X
(Raies K_{α} et K_{β} du cuivre)

- 1 — (*d*-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol préparé à partir du lévulose et de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ et NH_3 .
- 2 — Même corps préparé par condensation du *d*-glucosone avec NH_3 et le formol.
- 3 — Même corps préparé à partir du *d*-mannose.
- 4 — (*d*-lyxo) tétrahydroxybutyl-4-imidazol.
- 5 — Hydroxyméthyl-2-(*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl 4-imidazol.

Hydroxyméthyl-2-(d-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol. — Il est encore possible d'extraire, à partir du *d*-galactose, une petite quantité d'une base présentant les caractères des imidazols, et dont la composition centésimale correspond à l'hydroxyméthyl-2-(*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol,



Ce composé n'avait pas encore été décrit.

§ 3. — OBSERVATIONS

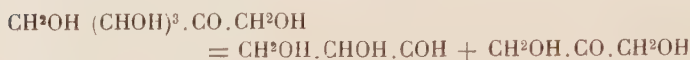
1° En dehors des combinaisons qui viennent d'être signalées, il s'en forme d'autres qu'il a été impossible d'isoler à l'état pur, par exemple des acides contenant en outre dans leur molécule le noyau imidazol.

2° On peut se demander ce qui se passerait si on maintenait le mélange de sucre et d'oxyde de cuivre ammoniacal à l'abri de l'air. L'expérience a été faite dans le cas du lévulose. La solution, bleue au début, se décolore peu à peu et un précipité brunâtre se sépare. Après un mois de contact, il a été possible d'extraire les mêmes produits que ceux formés en présence d'un courant d'air mais avec un rendement plus faible.

§ 4. — MÉCANISME DE LA FORMATION DES COMBINAISONS PRÉCÉDENTES

La formation de l'acide oxalique et des imidazols, dont on vient de donner la liste, s'explique très simplement si on admet la suite des transformations suivantes, analogue à celle proposée par A. Windaus et F. Knoop dans le cas de l'oxyde de zinc (voir p. 27).

1° Dédoublément partiel des sucres conduisant à l'aldéhyde glycérique et à la dioxycétone, dans le cas du lévulose :



à l'aldéhyde glycolique et au formol dans tous les cas :



Le rhamnose, par une réaction analogue aux précédentes, peut en outre donner l'aldéhyde éthylique :



2° Oxydation en α des aldoses et cétooses présents conduisant à des cétoaldéhydes. Le *d*-glucose, le *d*-mannose, le lévulose donnent le même *d*-glucosone.

Le *d*-galactose fournit le *d*-galactosone.

L'aldéhyde glycérique et la dioxycétone conduisent à un corps hypothétique : de formule $\text{CH}^2\text{OH} \cdot \text{CO} \cdot \text{COH}$.

L'aldéhyde glycolique fournit le glyoxal $\text{COH} \cdot \text{COH}$ mais dans ce cas l'oxydation peut aller jusqu'à l'acide oxalique $\text{CO}^2\text{H} \cdot \text{CO}^2\text{H}$.

3° Condensation des α -cétoaldéhydes avec l'ammoniac et le formol conduisant aux imidazols correspondants (voir p. 23).

Le *d*-glucosone donne le (*d*-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol ;

le *d*-galactosone donne le (*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol ;

$\text{CH}^2\text{OH} \cdot \text{CO} \cdot \text{COH}$ donne l'hydroxyméthyl-4-imidazol ;

le glyoxal donne l'imidazol.

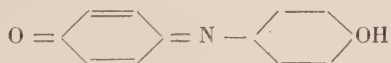
Dans le cas du *d*-galactose, le rendement en imidazol très important, permet de penser qu'il s'est formé une grande quantité d'aldéhyde glycolique, lequel a remplacé en partie le formol dans la condensation avec l'ammoniac et le *d*-galac-

tosone. Cette réaction donne l'hydroxyméthyl-2-(*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol dont la formation a été effectivement observée à partir du *d*-galactose.

Enfin dans le cas particulier du rhamnose, l'aldéhyde éthylique formé, donne par condensation avec l'ammoniac et le glyoxal le méthyl-2-imidazol.

Les schémas précédents ont le mérite d'être simples, mais il faut se garder de leur attribuer une valeur que, seules, des recherches expérimentales plus approfondies pourraient leur conférer. D'ailleurs, comme beaucoup d'autres oxydes métalliques, l'oxyde cuivrique forme des combinaisons avec les sucres, et il est fort probable que ces combinaisons interviennent au cours des transformations qui aboutissent aux imidazols.

Remarques sur l'oxydation des phénols et des naphols par l'oxyde de cuivre ammoniacal et l'oxygène de l'air. — Les sucres ne sont pas les seuls composés organiques fixant de l'azote par oxydation en présence d'ammoniaque. Une réaction classique du phénol consiste à traiter celui-ci, dissous dans l'ammoniaque, par un oxydant tel que l'hypochlorite de sodium ou l'eau oxygénée; il apparaît une coloration bleue qu'on attribue à la formation d'indophénol,



et le cuivre sert de catalyseur.

On peut encore observer la formation lente d'une coloration bleue si on agite à l'air le mélange.

Phénol.	1/100 mol.-g.
Sulfate de cuivre. . . .	1/500 mol.-g.
Ammoniac	1/50 mol.-g.
Sulfate d'ammonium . .	1/50 mol.-g.

De plus, la solution d'abord limpide laisse peu à peu déposer un précipité vert foncé contenant de l'azote et du cuivre.

Il a été possible d'isoler de la solution quelques cristaux d'indophénol caractérisés par leur point de fusion et le spectre d'absorption de leur solution alcaline.

Le précipité vert foncé, convenablement traité, donne un corps en petits cristaux orangés $F = 184^{\circ}$ insoluble dans les acides et les alcalis étendus et froids. Traité par les acides à chaud en milieu alcoolique, il donne une substance soluble dans les alcalis en rouge violacé avec une intense fluorescence rouge.

Le peu d'importance des rendements et l'instabilité des composés fournis n'a pas permis d'étudier plus à fond l'oxydation du phénol.

Si on remplace le phénol par l' α ou le β -naphtol, on observe encore la formation d'un précipité contenant du cuivre et de l'azote.

L'aniline, l' α et la β -naphtylamine donnent lieu au même phénomène.

CHAPITRE II

PRODUITS DE TRANSFORMATION DU LÉVULOSE EN PRÉSENCE D'AMMONIAQUE ET DE DIFFÉRENTS OXYDES MÉTALLIQUES, A L'ABRI DE L'AIR ET DANS UN COURANT D'AIR

Les conditions d'une expérience sont calquées sur celles indiquées au chapitre précédent.

Dans un flacon on introduit le mélange réalisé dans les proportions suivantes :

Lévulose	1/4 mol.-g. (45 g.)	
Hydroxyde ou sulfate métallique	0 à 1/2 »	
Ammoniac.	4 »	(375 cm ³ à 20 o/o)
Eau distillée . . . q. s. p.	1 000 cm ³	

On abandonne à la température du laboratoire, après avoir bouché, ou bien au contraire on fait passer un lent courant d'air comprimé au sein de la solution. Dans le cas des métaux expérimentés, celle-ci est à peu près limpide, car l'hydroxyde métallique s'est dissous presque complètement grâce au sucre et à l'ammoniac. Quelquefois un précipité peu important se dépose, mais on n'y trouve pas d'azote. Dans le cas du zinc, au contraire, le précipité est important et riche en azote.

Au bout de deux mois, on procède à l'analyse de la solution, bien que les réactions ne paraissent pas terminées.

Les oxydes ou sels métalliques utilisés sont : l'oxyde de zinc, la chaux, le sulfate ferreux, le sulfate ferrique, le sulfate de manganèse, et de plus, les mêmes expériences ont été

effectuées en l'absence de métal. Les concentrations en métal, ainsi que les corps obtenus, et les rendements sont indiqués dans un tableau p. 47. Voici quelques renseignements complémentaires.

Résultats des expériences à l'abri de l'air.

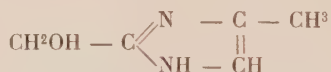
Voici les corps obtenus :

Méthyl-4-imidazol. — Dans tous les cas se forme le méthyl-4-imidazol qu'avaient déjà trouvé A. Windaus et F. Knoop à partir du lévulose et de divers sucres, en présence d'oxyde de zinc ammoniacal, mais avec des concentrations plus élevées.

Les rendements sont variables : très faibles en général, sauf dans le cas de l'oxyde de zinc.

Hydroxyméthyl-2-méthyl-4-imidazol. — Dans le cas du sulfate de manganèse, on obtient une petite quantité d'un corps présentant les réactions des imidazols, et dont la composition centésimale correspond à la formule $C^5H^8ON^2$.

C'est probablement l'hydroxyméthyl-2-méthyl-4-imidazol.



qui jusqu'à présent n'avait pas été décrit.

Résultats des expériences avec courant d'air.

Voici les corps obtenus :

Méthyl-4-imidazol. — La chaux, seule, donne lieu à la formation de méthyl-4-imidazol, comme à l'abri de l'air.

Hydroxyméthyl-4-imidazol. — Sauf dans le cas de la chaux, on peut isoler ce composé. Il se forme même en l'absence de métal. Dans tous les cas, les rendements d'ailleurs variables restent beaucoup moins importants qu'avec le cuivre.

Dans toutes ces expériences, on n'a pu obtenir, contrairement à ce qui se passe avec le cuivre, l'acide oxalique, l'imidazol, le (*d*-arabino) tétrahydroxybutyl-4-imidazol mais il se forme beaucoup de substances résineuses.

Mécanisme de la formation des combinaisons précédentes.

Les hypothèses de A. Windaus et F. Knoop relatives à la formation de méthyl-4-imidazol trouvent leur application ici (p. 27). Quant à l'hydroxyméthyl-4-imidazol, on peut supposer qu'il se forme par le processus indiqué au chapitre précédent. L'hydroxyméthyl-2-méthyl-4-imidazol se formerait par condensation de l'aldéhyde glycolique avec le méthylglyoxal et l'ammoniac (Cf. « Formation de l'hydroxyméthyl-2-(*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol », p. 39).

CHAPITRE III

CONDITIONS EXPÉRIMENTALES SE RAPPROCHANT DES CONDITIONS BIOLOGIQUES

§ 1. — OXYDATION DU LÉVULOSE PAR LE CARBONATE CUIVRIQUE AMMONIACAL ($\text{pH} = 7,7$) ⁽¹⁾.

On réalise le mélange :

Lévulose	20 g.
$\text{CO}^3\text{H}^+\text{NH}^4$	125 g.
Eau distillée.	10 litres.

Le pH déterminé à ce moment colorimétriquement est 7,7.
On ajoute :

Hydroxyde cuivrique	20 g.
-------------------------------	-------

et on fait passer un courant d'air pendant un mois, à la température ordinaire. Les phénomènes décrits page 32 à propos de l'oxydation des sucres par l'oxyde de cuivre ammoniacal se reproduisent. On observe la formation d'un précipité vert, contenant de l'azote et du cuivre, qui s'accroche aux parois du flacon, mais cette fois il n'a pas été possible d'extraire de ce précipité des combinaisons cristallisées. On a pu obtenir seulement, après élimination du cuivre par l'hydrogène sulfuré, une solution acide donnant fortement les réactions des imidazols : précipitation par le nitrate d'argent ammoniacal et coloration rouge par le *p*-dialzo-benzène-sulfonate de

(¹) Expérience faite en commun avec Mlle Y. Garreau.

sodium. Il s'agit probablement d'imidazol contenant une fonction acide en chaîne latérale.

La solution bleue a fourni par contre l'acide oxalique, l'hydroxyméthyl-4-imidazol, avec un rendement appréciable, mais il a été impossible d'isoler l'imidazol et le (*d*-arabino)-tétrahydroxybutyl-4-imidazol.

§ 2. — OXYDATION DU LÉVULOSE PAR LE BLEU DE MÉTHYLÈNE EN MILIEU AMMONIACAL

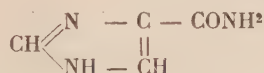
Rappelons que le bleu de méthylène présente une certaine analogie avec la cystine et le glutathion, transporteurs d'hydrogène jouant un rôle important dans les processus chimiques à l'intérieur de la cellule vivante.

On réalise le mélange :

Lévulose	1/4 mol.-g. (45 g.)
Bleu de méthylène (Merck, Ph. sap. IV, exempt de ZnCl ²)	1/10 » (31 g.)
Ammoniac.	4 » (375 cm ³ à 20 o/o)
Eau distillée . . q. s. p.	1 000 cm ³ .

dans lequel on fait passer un courant d'air, à la température du laboratoire pendant un mois.

L'analyse de la solution permet d'en extraire l'hydroxyméthyl-4-imidazol, le (*d*-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol et un corps nouveau : l'imidazol-4-formamide :



dont la constitution résulte des remarques suivantes :

1° La formule proposée est en bon accord avec les résultats de l'analyse élémentaire.

2° Ce composé donne deux réactions des imidazols ; pré-

1. — Oxydation de différents sucres, par l'oxyde cuprique ammoniacal et O de l'air (sucre 1/4 mol-%, Cu OH)₂ 1/2 mol-%, NH₃ 4 mol-%, eau distillée q. s. p. 1 l., courant d'air barbotant dans la solution).

Sucres expérimentés	Durée de l'expér. en jours	Poids en g. de précipité insoluble dans NH ₃ à partir de 100 g. sucre	Poids en g. des différents produits obtenus à partir de 100 g. de sucre (1)						
			Acide oxalique	Imidazol	Méthyl 2-imidazol	Hydroxy-méthyl-4-imidazol	(d-arabino) tétra-hydroxybutyl-4-imidazol	(d-lyxo) tétra-hydroxybutyl-4-imidazol	Hydroxyméthyl-2-(d-lyxo) tétra-hydroxybutyl-4-imidazol
lévulose	15	155	3	2,5		15	11		
d-glucose	15	145	1,5	1			24		
d-mannose	15	80	3	5			10		
d-galactose	60	180	5	15				0,5	
L-arabinose	30	165	4,4	31					0,4
L-xylose	30	142	1,7	7,3					
rhamnose	30	10	3	ε	1,5		ε		
dioxyacétone	15	150	ε	0					

(1) Les poids de base sont calculés à partir des poids de picrates obtenus.
ε Quantité très petite.

(1) Les poids de base sont calculés à partir des poids de picrates obtenus.
ε Quantité très petite.

II. — Transformations du lévulose en milieu ammoniacal, en présence de divers oxydes métalliques (lévulose 1/4 mol.-g.; hydroxyde ou sulfate métallique 0 à 1/2 mol.-g.; NH_3 4 mol.-g. eau distillée q. s. p. 1 l.).

Oxyde ou sel, en mol.-g. par litre	Durée de l'expér. en jours	Poids en g. des différents produits obtenus à partir de 100 g. de sucre ⁽¹⁾			
		A) à l'abri de l'air		B) courant d'air	
		Méthyl-4-imidazol	Hydroxyméthyl-2-méthyl-4-imidazol	Méthyl-4-imidazol	Hydroxyméthyl-4-imidazol
Pas de métal.	60	0,6			0,4
$\text{Zn}(\text{OH})_2$ 1/2 mol.-g.	60	10			
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ 2/5 mol.-g.	60	0,4		0,7	
SO_4Fe 1/10 mol.-g.	60	2			0,2
$(\text{SO}_4)_3\text{Fe}^2$ 1/20 mol.-g.	50	?			1,2
SO_4Mn 1/5 mol.-g.	60	3	3		0,2

⁽¹⁾ Les poids de base sont calculés à partir des poids de picrates obtenus.

III. — Oxydation du lévulose par le carbonate cuivrique ammoniacal et O de l'air en solution étendue (lévulose 2 g.; $\text{CO}_3\text{H}^+\text{NH}_4$ 12 g. 5; eau 1 lit. (Pa à ce moment 7,7) + $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 2 g.; courant d'air). Poids obtenus à partir de 100 g. de lévulose ⁽¹⁾: acide oxalique, hydroxyméthyl-4-imidazol 5 g.

IV. — Oxydation du lévulose par le bleu de méthylène et l'oxygène de l'air en présence de NH_3 (lévulose 1/4 mol.-g.; bleu 1/10 mol.-g.; NH_3 4 mol.-g.; eau q. s. p. 1 lit.; courant d'air) (durée 1 mois). Poids des différents produits obtenus à partir de 100 g. de sucre ⁽¹⁾:

Hydroxyméthyl-4-imidazol	(d-arabino,tétrahydroxybutyl-4-imidazol	Imidazol-4-formamide
1,4	3,6	1

cipitation par le nitrate d'argent ammoniacal et coloration rouge par le *p*-diazobenzène-sulfonate de sodium.

3° Il donne la réaction du biuret (coloration violette par une trace d'un sel de Cu en milieu sodique); traité par l'acide chlorhydrique concentré à chaud il fournit l'ammoniac et l'acide imidazol-4-carbonique. Ces deux caractères indiquent la présence d'une fonction amide.

On a indiqué, p. 13, l'intérêt que présente la formation de la fonction amide dans les conditions décrites dans ce chapitre.

CHAPITRE IV

PROPRIÉTÉS ET CARACTÉRISATION DES COMBINAISONS ISOLÉES

Les propriétés indiquées dans ce chapitre ont servi à identifier les combinaisons isolées au cours de ce travail. Il n'a pas été possible d'effectuer des analyses élémentaires sur tous les échantillons du même corps, à cause des faibles rendements ⁽¹⁾.

Tous les imidazols isolés donnent un précipité avec le nitrate d'argent ammoniacal et une coloration rouge avec le *p*-diazobenzène-sulfonate de sodium.

Imidazol $C^3H^7N^2$. — Gros prismes incolores $F = 88^0$ solubles dans la plupart des solvants. On purifie par cristallisations dans l'éther anhydre.

Analyse. — Théorie pour $C^3H^7N^2$: C o/o 52,90, H o/o 5,93, N o/o 41,17 ; trouvé : C o/o 53,23, H o/o 5,96, N o/o 41,20.

Oxalate acide d'imidazol. $C^2O^4H^2$, $C^3H^7N^2$. — Gros prismes incolores, solubles dans l'eau chaude, moins solubles dans l'eau froide, insolubles dans les autres solvants usuels. Ce corps fond à 252^0 en se décomposant avec effervescence. Il y a formation d'imidazol, d'acide carbonique, d'oxyde de carbone et d'un faible résidu charbonneux, si bien que les produits de cette décomposition sont alcalins, tandis que l'oxalate acide était fortement acide au tournesol.

(¹) La plupart des analyses élémentaires ont été faites par M. Robert Levailant. Qu'il me permette de lui adresser mes remerciements.

Analyse. — Théorie pour $C^5H^9O^4N^2$: C o/o 37,95, H o/o 3,82, N o/o 17,72 ; trouvé : C o/o 37,37, H o/o 3,85, N o/o 17,55.

Picrate d'imidazol. — Aiguilles jaunes, $F = 206^0$ déc., solubles à chaud dans l'eau, insolubles à froid.

Méthyl-2-imidazol $C^4H^9N^2$. — Gros prismes allongés incolores ressemblant beaucoup à l'imidazol $F = 137^0$.

Analyse. — Théorie pour $C^4H^9N^2$: C o/o 58,48, H o/o 7,49, N o/o 34,14 ; trouvé : C o/o 58,77, H o/o 7,64, N o/o 33,84.

Méthyl-4-imidazol $C^4H^9N^2$. — On le purifie par distillation. Il se présente alors sous forme d'une masse blanche cristalline, hygroscopique, $F = 55^0$, $E_{760} = 263^0$, soluble dans l'eau, l'alcool, un peu moins dans l'éther.

Analyse. — Théorie pour $C^4H^9N^2$: C o/o, 58 48, H o/o 7,49, N o/o 34,14 ; trouvé : C o/o 58,77, H o/o 7,64, N o/o 33,84.

Oxalate (acétone à 75 o/o). — $F = 205^0$ - 206^0 .

Picrate. — Aiguilles jaunes peu solubles dans l'eau froide, plus solubles dans l'eau chaude, $F = 159^0$ - 160^0 .

Imidazol-4-formamide $C^4H^5ON^3 + H^2O$. — Gros cristaux incolores (eau), $F = 214^0$ (anhydre) s'effleurissant très lentement à l'air, un peu solubles dans l'eau froide, plus solubles dans l'eau chaude, insolubles dans les autres solvants usuels. Sa solution est faiblement alcaline au tournesol. Traité par l'acide chlorhydrique concentré et chaud, il fournit l'acide imidazol-4-carbonique et l'ammoniac. Donne la réaction du biuret, et avec $ClONa$ une coloration violette :

Analyse. — Théorie pour $C^4H^5ON^3$: C o/o 43,21, H o/o 4,53, N o/o 37,83 ; eau o/o 16,22 (o/o produit anhydre) ; trouvé : C o/o 43,25, H o/o 4,60, N o/o 37,93, eau o/o 16,13.

Chlorhydrate. — Gros prismes incolores, $F = 220^0$.

Picrate. — Aiguilles jaunes, solubles dans l'eau chaude, peu solubles dans l'eau froide, $F = 208^0$.

Hydroxyméthyl-4-imidazol [26] $C^4H^9ON^2$. — Hexaèdres

incolores, $F = 93^{\circ}5$, très solubles dans l'eau et l'alcool, solubles dans l'acétone à chaud, moins solubles à froid, insolubles dans l'éther. On purifie par cristallisations dans l'acétone.

Analyse. — Théorie pour $C^4H^8ON^2$: C o/o 48,94, H o/o 6,16, N o/o 28,6 ; trouvé : C o/o 48,62, H o/o 6,04, N o/o 28,9.

Picrate. — Aiguilles jaunes, $F = 206^{\circ}$ déc., insolubles à froid, solubles à chaud.

Hydroxyméthyl-2-méthyl-4-imidazol $C^5H^8ON^2$. — Paillettes (eau), $F = 129^{\circ}$, très solubles dans l'eau chaude, peu solubles dans l'eau froide, solubles dans l'alcool et l'acétone, insolubles dans l'éther.

Analyse. — Théorie pour $C^5H^8ON^2$: C o/o 53,57, H o/o 7,20, N o/o 24,99 ; trouvé : C o/o 53,23, H o/o 7,13, N o/o 25,20.

Picrate. — Paillettes jaunes, solubles dans l'eau chaude, moins solubles dans l'eau froide, $F = 82^{\circ}$.

(d-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol $C^7H^{12}O^4N^2$. — Fines aiguilles nacrées, $F = 164^{\circ}$. $[\alpha]_D = -19^{\circ}5$ en solution dans l'eau. Soluble dans l'eau chaude, moins soluble dans l'eau froide, insoluble dans les autres solvants usuels.

Pour le caractériser, son spectre de diffraction de rayon X a été souvent utilisé.

Analyse. — Théorie pour $C^7H^{12}O^4N^2$: C o/o 44,65, H o/o 6,43, N o/o 14,89 ; trouvé : C o/o 44,70, H o/o 6,52, N o/o 14,91.

Picrate. — Fines aiguilles jaune d'or, $F = 113^{\circ}$, solubles dans l'eau chaude, peu solubles dans l'eau froide, un peu solubles dans l'alcool.

Chlorhydrate $C^7H^{12}O^4H^2 + ClH$. — Fines aiguilles (eau), $F = 179^{\circ}$ (Pauly donnait $F = 162^{\circ}$), solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool.

Analyse. — Théorie pour $C^7H^{13}O^4N^2Cl$: C o/o 37,40, H o/o 5,83, N o/o 12,47, Cl o/o 15,79 ; trouvé : C o/o 37,52, H o/o 5,90, N o/o 12,40, Cl o/o 15,72.

(d-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol $C^7H^{12}O^4N^2$. — Aiguilles microscopiques incolores, $F = 132^\circ$, très solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool méthylique chaud, insolubles à froid, insolubles dans les autres solvants usuels. On purifie par cristallisations dans l'eau.

Analyse. — Théorie pour $C^7H^{12}O^4N^2$: C o/o 44,65, H o/o 6,43, N o/o 14,89 ; trouvé : C o/o 44,21, H o/o 6,27, N o/o 14,85.

Picrate. — Houppes cristallines (alcool) $F = 164^\circ$, très solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool à chaud, un peu moins à froid.

Hydroxyméthyl-2-(d-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol $C^8H^{14}O^5N^2$. — Paillettes incolores, $F = 201^\circ$, solubles dans l'eau, insolubles dans les autres solvants anhydres.

Analyse. — Théorie pour $C^8H^{14}O^5N^2$: C o/o 43,80, H o/o 6,42, N o/o 12,85 ; trouvé : C o/o 43,80, H o/o 6,48, N o/o 13,07.

CHAPITRE V

INDICATIONS TECHNIQUES

I. — Résumé de la technique employée pour la séparation des produits azotés.

§ 1. — CAS DE CU ET ZN

Une première étape se trouve réalisée d'elle-même dans le cas où on a opéré en présence de $\text{Cu}(\text{OH})^2$ ou $\text{Zn}(\text{OH})^2$, puisque une grosse partie des substances azotées formées au cours de la réaction précipite au sein de la solution, à l'état de combinaisons avec le métal. Après filtration et lavage, on libère la partie organique en mettant en suspension dans l'eau et saturant de H^2S . On filtre le sulfure métallique et chasse H^2S . Il en résulte une solution fortement alcaline au tournesol, contenant un mélange de bases, qu'on sépare par précipitation fractionnée par l'acide picrique. Les picrates ainsi préparés sont souvent purs. Par épuisement à l'éther en milieu sulfurique, on entraîne l'acide picrique, puis à l'aide de CO^3Ba , on élimine l'acide sulfurique. Il suffit alors d'évaporer pour obtenir la base.

Dans le cas du cuivre, le premier filtrat ammoniacal débarrassé de l'ammoniac par évaporation et traité par H^2S fournit, quel que soit le sucre, de l'oxalate acide d'imidazol presque pur.

§ 2. — AUTRES CAS

On commence par chasser NH^3 en évaporant en présence de baryte. Si on a utilisé du bleu de méthylène, on provoque auparavant la réduction et la précipitation de celui-ci à l'état de leuco-dérivé, en maintenant la solution deux ou trois jours à l'abri de l'air, au besoin après addition de quelques grammes de sucre.

Après élimination du Ba, on ajoute une solution d'acide phosphotungstique. Le précipité de phosphotungstates ainsi obtenu est traité par une solution de baryte. Après filtration et élimination de la baryte en excès par CO^2 , on a une solution fortement alcaline au tournesol, contenant un mélange de bases qu'on sépare à l'aide de l'acide picrique comme ci-dessus.

II. — Description détaillée de quelques opérations.

§ 1. — TRAITEMENT DES COMBINAISONS CUPRIQUES ET ZINCIQUES
INSOLUBLES DANS L'EAU AMMONIACALE

Ce sont les combinaisons qui se déposent quand on traite un hexose ou un pentose par l'oxyde de cuivre ammoniacal (à l'abri ou en présence de l'air).

On filtre sur Buchner, lave par deux fois en malaxant avec de l'eau dans une capsule; pour en avoir le poids on pèse humide et on détermine la proportion d'eau, par séchage d'une prise d'essai dans l'étuve à vide à 60° . On délaie dans l'eau (1 000 cm^3 d'eau pour 50 à 100 g. de précipité), verse dans un flacon et fait arriver de l'hydrogène sulfuré jusqu'à saturation, ce qui demande 2 ou 3 jours. On filtre sur un filtre à plis, lave trois fois, en délayant chaque fois

le CuS dans l'eau et portant à l'ébullition. On évapore l'ensemble des filtrats dans le vide à sec, reprend par l'eau, ajoute du noir animal, qui décolore et désodorise en partie. On filtre le liquide alcalin au tournesol, sur Buchner, puis on met dans un b cher et ajoute peu à peu en agitant, une solution de sous-acétate de plomb à 20 o/o. Une fois la précipitation terminée, on filtre sur filtre à plis, lave trois fois par broyage avec de l'eau dans une capsule. Le précipité est vraisemblablement constitué par des sels de Pb d'acides contenant des fonctions azotées (noyau imidazol), mais on n'a pu en extraire de produits cristallisés. Il entraîne utilement des substances résineuses colorées, mais cette opération n'est pas absolument nécessaire. L'ensemble des filtrats est traité par H^2S pour éliminer Pb en excès. Après filtration et lavage, on évapore à sec dans le vide, reprend par l'eau, agite avec du noir, filtre sur Buchner. On traite ensuite par l'acide picrique, comme il est décrit plus loin.

  2. — TRAITEMENT DES EAUX-MÈRES AMMONIACALES DES COMBINAISONS CUPRIQUES

On les joint aux eaux de lavage correspondantes, évapore dans un bon vide, tout en agitant fréquemment, de façon que la température ne s'élève pas trop et que les parois du ballon ne se recouvrent pas d'une croûte solide, ceci afin d'éviter une réduction possible de l'oxyde de cuivre. On arrête avant que l'évaporation ne soit totale. A partir de ce moment on peut opérer exactement comme au   1 et on obtient alors de l'oxalate de plomb et du picrate d'imidazol ; mais il est plus avantageux de reprendre à froid par l'acétique étendu, et de traiter seulement le résidu bleuâtre, convenablement lavé, par H^2S . Après filtration de CuS , évaporation à sec, décoloration au noir et concentration, l'oxalate acide d'imidazol cristallise presque pur. On purifie par de nouvelles cristallisations dans l'eau.

§ 3. — PRÉCIPITATION PAR L'ACIDE PHOSPHOTUNGSTIQUE

L'acide phosphotungstique donne des précipités avec l'ammoniac et les sels ammoniacaux aussi bien qu'avec un grand nombre de corps azotés. Il est donc avantageux d'éliminer l'ammoniac avant d'effectuer la précipitation. Pour cela, on filtre le liquide s'il y a lieu, et on évapore dans le vide à petit volume. S'il reste encore des quantités appréciables d'ammoniac, on étend d'eau, de façon à ramener aux deux tiers environ du volume primitif; on ajoute un excès d'une solution de baryte et évapore dans le vide jusqu'à $1/2$ volume. La baryte est éliminée à nouveau par un léger excès d'acide sulfurique. On filtre sur Buchner, lave le précipité deux fois en le malaxant dans une capsule avec de l'eau bouillante. Un peu de SO_4Ba peut passer au travers du papier, cela est sans importance. On évapore dans le vide, de façon que le volume soit 1 litre (dans le cas où on a mis en expérience 200 g. de sucre), met dans un bécher. On y verse peu à peu en agitant une solution d'acide phosphotungstique à 40 o/o jusqu'à ce qu'une goutte ne provoque plus aucun louche dans une prise d'essai de 10 cm^3 après 5 minutes. On abandonne une nuit, car les phosphotungstates microcristallins précipitent lentement. Le lendemain, on s'assure encore que la précipitation est bien totale, et on filtre sur Buchner. On lave trois fois en malaxant dans une capsule avec de l'eau froide. Une partie peu importante du précipité peut passer au travers du papier, dans les eaux de lavage. Il est facile de la récupérer ainsi : on porte à l'ébullition, ce qui provoque une dissolution partielle du phosphotungstate en suspension et agglomère le reste. Après un jour, on filtre. Le phosphotungstate peut être séché, mais il est préférable de le conserver humide pour le traitement ultérieur par la baryte. Pour en avoir le poids approximatif

on détermine la proportion d'eau sur une prise d'essai qu'on sèche dans l'étuve à vide à 60°.

§ 4. — DÉCOMPOSITION DES PHOSPHOTUNGSTATES PAR LA BARYTE

Le phosphotungstate encore humide est délayé avec de l'eau dans une capsule, puis versé dans un flacon. On ajoute encore de l'eau de façon que le volume soit environ 500 cm³ pour 100 g. de phosphotungstate. On verse rapidement dans le flacon un excès d'une solution chaude de baryte à 40 o/o, soit environ 300 à 400 cm³.

On agite fortement, laisse 2 heures en prenant soin d'agiter de temps en temps. On vérifie qu'une prise d'essai filtrée ne donne aucun louche avec l'eau de baryte, et, au contraire, donne un précipité sous l'action de CO², sinon il faudrait ajouter encore de la baryte. On essore sur Buchner, lave deux fois, en malaxant avec de l'eau dans une capsule. On fait passer un courant de CO² dans l'ensemble des filtrats tant qu'il se forme un précipité, filtre, lave, évapore à sec dans le vide. On reprend trois fois par l'alcool à 90° à l'ébullition, à reflux, une demi-heure chaque fois. Il reste dans le ballon un résidu plus ou moins important (sels de Ba azotés, CO³Ba, etc...). La solution alcoolique évaporée à sec dans le vide est reprise par l'eau ; décolorée au noir s'il y a lieu. On sépare les bases à l'aide de l'acide picrique comme ci-dessous.

§ 5. — PRÉCIPITATION FRACTIONNÉE DES BASES PAR L'ACIDE PICRIQUE

La solution alcaline à laquelle on est parvenu, soit par traitement des combinaisons cupriques par H²S, soit par

décomposition des phosphotungstates par la baryte, est placée dans une fiole d'Erlenmeyer et étendue d'eau, de telle façon que la concentration soit environ 10 o/o.

On ajoute une quantité d'acide picrique solide, variable suivant les cas (20 g. dans le cas du lévulose et oxyde de cuivre) qu'on dissout à l'ébullition. Pendant le refroidissement on observe attentivement le liquide, car il arrive souvent que des substances résineuses se déposent en premier. Si cela arrive, aussitôt que la cristallisation s'amorce, on filtre rapidement à la trompe sur Buchner, dans une fiole en pyrex. Les résines restent sur le papier. Cette opération peut être effectuée sans inconvénient, même si le liquide est très chaud. La solution cristallise dans la fiole à vide. Les cristaux essorés et lavés avec quelques centimètres cubes d'eau constituent une première fraction.

Aux eaux-mères, on ajoute 5 g. d'acide picrique et on recommence les opérations précédentes en prenant les mêmes précautions.

On répète plusieurs fois jusqu'à ce qu'on obtienne par refroidissement, non plus un picrate, mais de l'acide picrique.

Il est intéressant de peser chaque fraction de picrate ainsi obtenue, car un poids presque nul ou simplement faible indique le passage d'une espèce chimique à une autre. Les fractions semblables par leur nature et leur degré de pureté sont ensuite réunies. Cette méthode a permis la séparation nette de picrates insolubles dans l'eau froide, de façon plus rapide que par cristallisation fractionnée (méthyl-4-imidazol et hydroxyméthyl-2-méthyl-4-imidazol; hydroxyméthyl-4-imidazol et imidazol-4-formamide).

Les eaux-mères sont agitées avec de l'éther, afin d'enlever l'acide picrique en excès, puis évaporées dans le vide. On dissout le résidu dans un peu d'eau chaude. Après refroidissement, on obtient quelquefois un picrate cristallisé différent des précédents (picrate de (*d*-arabino)tétrahydroxybutyl-4-imidazol).

§ 6. — PRÉPARATION DES BASES A PARTIR DES PICRATES

Dans le cas d'un picrate soluble dans l'eau froide ou tiède, on additionne sa solution d'un excès faible d'acide sulfurique. La plus grosse partie de l'acide picrique précipite à ce moment.

Dans le cas d'un picrate soluble dans l'eau à chaud seulement, on ajoute goutte à goutte 10 fois la quantité calculée d'acide sulfurique, dans la solution du picrate (à 4 o/o) chaude. On refroidit sous un courant d'eau, l'acide picrique cristallise. Si on avait utilisé une quantité moindre d'acide sulfurique, une partie du picrate se déposerait également.

Après avoir filtré l'acide picrique, on épuise à l'éther pour éliminer ce qui en reste en solution. On fait bouillir la couche aqueuse en présence d'un excès de carbonate de baryum qui précipite l'acide sulfurique, en même temps que les dernières traces d'acide picrique se trouvent entraînées. On s'assure que la liqueur ne contient plus d'acide sulfurique, au moyen d'une goutte de chlorure de baryum dans une prise d'essai, essore sur Buchner, lave par trois fois le précipité en le broyant avec de l'eau. L'ensemble des filtrats est évaporé à sec dans le vide. On redissout dans un peu d'eau, décolore en noir s'il y a lieu, essore. Un faible résidu minéral (CO^3Ba , SO^4Ba) reste toujours sur le filtre. Une nouvelle évaporation à sec dans le vide donne la base. On purifie par cristallisations dans des solvants convenables (voir p. 49).

II. — Indications techniques particulières.

§ 1. — OXYDATION DU *d*-GALACTOSE PAR L'OXYDE
DE CUIVRE AMMONIACAL

La séparation du (*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol de l'hydroxyméthyl-2-(*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol

étant très délicate, il est nécessaire de la décrire avec quelques détails.

Le précipité cuprique insoluble dans l'ammoniaque est débarrassé du cuivre, puis traité par l'acide picrique, comme il est indiqué (p. 57). On obtient ainsi une quantité importante de picrate d'imidazol, qu'on sépare, puis l'acide picrique se dissout facilement à froid. Après épuisement à l'éther, on évapore dans le vide. Par refroidissement, un mélange de picrates amorphes se dépose que nous désignerons par A et il reste des eaux-mères B.

Traitement de A. — On extrait les bases en se conformant à la méthode générale (p. 50). Leur solution évaporée à sec est reprise par l'alcool éthylique bouillant à 90 o/o à reflux. Par refroidissement de la solution alcoolique, l'hydroxyméthyl-2-(*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol cristallise, et on le purifie par de nouvelles cristallisations dans l'alcool éthylique bouillant.

Traitement de B. — On extrait le mélange des bases comme précédemment, et à leur solution aqueuse concentrée, on ajoute de l'alcool méthylique, en agitant. Des substances amorphes précipitent immédiatement. On décante dans une autre capsule, et agite constamment en prenant soin de frotter l'agitateur contre les parois. La cristallisation du (*d*-lyxo)tétrahydroxybutyl-4-imidazol commence et se poursuit lentement. On essore, lave à l'alcool méthylique et purifie par cristallisation dans l'eau.

Ainsi qu'on l'a indiqué, les rendements concernant les deux imidazols précédents sont extrêmement faibles. Il est bon de mettre 500 g. de *d*-galactose en expérience.

§ 2. — OXYDATION DU RHAMNOSE PAR L'OXYDE DE CUIVRE AMMONIACAL

Le précipité cuprique insoluble dans l'ammoniaque, exceptionnellement peu important, est traité à la façon habi-

tuelle. On obtient ainsi un peu de picrates de méthyl-2-imidazol et d'imidazol.

La solution bleue est évaporée à petit volume dans un grand ballon, car le liquide mousse abondamment. Il se dépose ainsi un précipité que nous désignerons par A et qu'on filtre, B étant le filtrat.

Traitement de A. — On le traite comme le précipité qui se forme tout d'abord, pendant l'oxydation du sucre, ce qui donne le picrate de méthyl-2-imidazol et du rhamnose non altéré.

Traitement de B. — On étend d'eau, sature d'hydrogène sulfuré. Après filtration du CuS et évaporation dans le vide, cristallise de l'oxalate d'ammonium, puis à la longue du rhamnose resté inaltéré.

§ 3. — TRAITEMENT DU LÉVULOSE PAR L'AMMONIAQUE ET LA CHAUX

Lorsqu'on effectue le mélange de ces différents produits dans les proportions indiquées p. 47, on observe rapidement une véritable prise en masse, due à la précipitation d'une combinaison calcique du lévulose; après 24 heures tout est passé à nouveau en solution; puis, peu à peu, on observe la formation d'un précipité d'aspect amorphe, ne contenant d'ailleurs pas d'azote.

Dans le traitement ultérieur, grâce à la présence de la chaux, l'ammoniac s'élimine entièrement par évaporation. Avant d'ajouter de l'acide phosphotungstique, on précipite le calcium par un faible excès d'acide oxalique.

§ 4. — OXYDATION DU LÉVULOSE PAR L'OXYDE DE CUIVRE EN PRÉSENCE DE BICARBONATE D'AMMONIUM

Le précipité cuprique traité comme il est indiqué page 53 n'a pas fourni de produits cristallisés.

La solution bleue est évaporée à petit volume dans un bon vide (14 à 20 mm. au maximum). On traite par H^2S pour éliminer Cu . Après filtration de CuS et évaporation dans le vide, la liqueur est précipitée par l'acide phosphotungstique (voir p. 56). On continue à la façon habituelle.

§ 5. — PRÉPARATION DU (*d*-ARABINO)TÉTRAHYDROXYBUTYL-4-IMIDAZOL A PARTIR DU *d*-GLUCOSE

Le glucosone est préparé par la méthode de Paul Mayer [30], qui consiste à faire réagir le glucosone sur la benzaldéhyde, ces deux corps étant en suspension dans l'eau. La préparation d'une quantité importante de glucosone est fastidieuse, car pour obtenir un bon rendement, il faut opérer sur 2 g. de glucosone à la fois, et faire bouillir le mélange avec l'eau et la benzaldéhyde pendant plusieurs heures. C'est pourquoi on a opéré ici sur 12 g. de glucosone seulement. La solution de glucosone obtenue ainsi (pour les détails de la préparation, voir le mémoire cité) est réduite à 25 cm³ par évaporation dans le vide, puis additionnée de 5 cm³ de formol à 40 o/o.

On refroidit au voisinage de 0°, en entourant le flacon de glace, puis on sature d'ammoniac sec, tout en refroidissant constamment. On abandonne le mélange pendant une nuit, puis on évapore à sec dans le vide, on reprend par l'eau et traite par l'acide picrique comme d'habitude (p. 57) par fractions de 1 g. Le picrate d'ammonium précipite par refroidissement ; on épuise à l'éther, puis on évapore dans le vide la solution aqueuse. Le résidu est constitué en majeure partie par du picrate d'ammonium et du picrate de (*d*-arabino)-tétrahydroxybutyl-4-imidazol. On reprend par l'alcool absolu qui dissout ce dernier seulement. Après filtration et évaporation on traite comme d'habitude pour extraire la base (p. 59). Le poids obtenu est environ 0 g. 5 ; on fait cristalliser plusieurs fois dans l'eau, sans qu'il soit possible de purifier complètement.

CONCLUSIONS

En vue d'obtenir des renseignements susceptibles d'être utiles aux biologistes, j'ai étudié les transformations subies par les sucres en milieu ammoniacal, en prenant soin d'opérer à la température ordinaire. Il se forme principalement des substances du groupe de l'imidazol, noyau azoté qui entre de façon constante dans la constitution des protéines du noyau de la cellule vivante.

Les résultats obtenus se résument brièvement ainsi :

1° Par oxydation de différents sucres (hexoses, pentoses, dioxycétone) par l'oxyde cuivrique ammoniacal et l'oxygène de l'air, on obtient l'acide oxalique, l'imidazol et différents dérivés de ce dernier variables avec les sucres expérimentés. On doit signaler particulièrement le (*d*-arabino) tétrahydroxybutyl-4-imidazol, obtenu à partir du *d*-glucose, du *d*-manose et du lévulose avec un bon rendement.

2° Le lévulose à l'abri de l'air, en présence d'ammoniaque, seul ou additionné d'un oxyde métallique (Zn, Ca, Fe^{II}, Fe^{III}, Mn) donne naissance au méthyl-4-imidazol. Dans le cas de Mn, on obtient en outre l'hydroxyméthyl-2-méthyl-4-imidazol.

Les mêmes expériences dans un courant d'air conduisent en général à l'hydroxyméthyl-4-imidazol.

3° L'oxydation du lévulose par le carbonate cuivrique ammoniacal et l'oxygène de l'air, en solution très diluée et de pH 7,7, fournit encore l'acide oxalique et l'hydroxyméthyl-4-imidazol.

4° L'oxydation du lévulose par le bleu de méthylène en milieu ammoniacal donne l'hydroxyméthyl-4-imidazol, le (*d*-arabino) tétrahydroxybutyl-4-imidazol et l'imidazol-4-formamide.

La plupart des combinaisons isolées sont nouvelles.

Dans les deux dernières expériences, j'ai tenté de me rapprocher des conditions biologiques. En particulier, le bleu de méthylène présente une certaine analogie avec des transporteurs d'hydrogène tels que la cystine et le glutathion, qui semblent jouer un rôle important dans les processus chimiques à l'intérieur de la cellule vivante. Il est intéressant de remarquer que dans ce cas, on obtient outre le noyau imidazol, une fonction amide.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BAUDISCH (O.). — *Ber. d. chem. Gesells.*, 50 (1917), 652.
- (2) FOSSE (Richard). — *L'urée* (Les Presses Universitaires de France, 1927).
- (3) BALLY. — *Annual Reports XXIV* (1927), 227.
- (4) PICKARD (R. H.) et CARTER (W.). — *J. Chem. Soc. London*, 79 (1901), 521.
- (5) AUBEL et BOURGUEL. — *C. R. Ac. Sc.*, 186 (1928), 1844.
- (6) KNOOP (F.). — *Z. physiol. Chem.*, 170 (1927), 186.
- (7) MAILLARD (L. C.). — *Genèse des Matières protéiques et des matières humiques* (Masson, 1913).
- (8) BURIAN (R.). — *Ber. d. chem. Gesells.*, 37 (1904), 696.
- (9) TANRET. — *C. R. Ac. Sc.*, 100 (1885), 1540.
- (10) TANRET. — *Bull. Soc. Chim.* [1], 44 (1885), 103.
- (11) BRANDES (P.) et STOEHR (C.). — *J. prakt. Chem.* [2], 54 (1896), 481.
- (12) WINDAUS (A.) et KNOOP (F.). — *Ber. d. chem. Ges.*, 38 (1905), 1166.
- (13) WINDAUS (A.) et KNOOP (F.). — *Ber. d. chem. Ges.*, 39 (1906), 3886.
- (14) WINDAUS (A.) et KNOOP (F.). — *Ber. d. chem. Ges.*, 40 (1907), 799.
- (15) INOUE (K.). — *Ber. d. chem. Gesells.*, 40 (1907), 1830.
- (16) KNOOP (F.) et WINDAUS (A.). — *D. R. P.* 183588 (1905).
- (17) WINDAUS (A.) et ULLRICH (A.). — *Z. physiol. Chem.*, 92 (1914), 276.
- (18) BERNHAUER (K.). — *Z. physiol. Chem.*, 183 (1929), 67.
- (19) LOBRY DE BRUYN et VAN LEENT. — *Rec. Trav. Chim. P.-B.*, 14, 140.
- (20) WINDAUS (A.) et ULLRICH (A.). — *Z. physiol. Chem.*, 90 (1914), 366.
- (21) GIRARD (Pierre) et PARROD (Jacques). — *C. R. Ac. Sc.*, 190 (1930), 328.
- (22) PARROD (Jacques). — *C. R. Ac. Sc.*, 192 (1931), 1136.
- (23) PARROD (Jacques) et GARREAU (Yvonne). — *C. R. Ac. Sc.*, 193 (1931), 890.

- (24) GARREAU (Yvonne) et PARROD (Jacques). — *C. R. Ac. Sc.*, **494** (1932), 657.
 - (25) PARROD (Jacques). — *C. R. Ac. Sc.*, **495** (1932), 285 et 1110.
 - (26) GIRARD (Pierre) et PARROD (Jacques). — *Annales de Physiologie*, VII, 295.
 - (27) LEE PYMAN (Franck). — *J. Chem. Soc. London*, **99** (1911), 668.
 - (28) PAULY (Hermann) et LUDWIG (Ernst). — *Z. physiol. Chem.*, **121** (1922), 170.
 - (29) ISHIFUKU (K.). — *C. Z.*, **40** (1928), 988.
 - (30) MAYER (Paul). — *Biochem. Ztschr.*, **40** (1912), 455
-

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Constitution des noyaux atomiques.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 12 janvier 1933.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

